



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

RATLARDA ÇİZGİLİ KAS DESTEKLİ AORTİK TÜP FASİYAL SİNİR REJENERASYON MODELİNDE FONKSİYONEL VE MORFOLOJİK SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zafer ERDOĞAN

Antalya, 2021



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA ÇİZGİLİ KAS DESTEKLİ
AORTİK TÜP FASİYAL SİNİR REJENERASYON
MODELİNDE FONKSİYONEL VE MORFOLOJİK
SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zafer ERDOĞAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ethem Taner GÖKSU

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2021

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalındaki uzmanlık eğitimi sürecimde üzerimde emeği olan tüm öğretim üyelerine saygı ve sevgilerimi sunarım.

Eğitimim süresince desteğini gördüğüm tüm asistan hekim, hemşire ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık tezimin hazırlanma aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen, her zaman destek olan sevgili eşime teşekkürlerimi sunarım...



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Çizelgeler Dizini	vi
Şekiller Dizini	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnsan Fasiyal Sinir Anatomisi	2
2.2. Rat Fasiyal Sinir Anatomisi	5
2.3. Periferik Sinir Histolojisi	7
2.4. Periferik Sinir Yaralanmalarının Fizyopatolojisi	9
2.4.1. Tanım ve Etiyoloji	11
2.4.2. Klinik Bulgular	12
2.4.3. Tanı	14
2.4.4. Tedavi	14
2.4.4.1. Cerrahi tedaviler	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Denekler ve Deney Gruplarının Oluşturulması	20
3.2. Cerrahi İşlem	21
3.3. Değerlendirme Testleri	26
3.3.1. Vibriseal Motor Performansın Değerlendirilmesi	26
3.3.2. Kolateral Aksonal Dallenmanın Değerlendirilmesi	28
3.3.3. Hedef Kas Reinervasyon Paterninin Analizi	30
3.4. Veri Analizi	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	33
6. ÖZET	41
7. ABSTRACT	42

8. KAYNAKLAR	43
9. EKLER	56
Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Merkezi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı	56



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
DiI	Dalkil Karbosiyanın
EMG	Elektromiyografi
ENG	Elektronörografi
ESC	Embriyonik Kök Hücre
ESM	Ekstraselüler Matriks
FB	Fast Blue
IPSC	İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücre
LLS	Levator Labii Süperior
MUAP	Motor Ünite Aksiyon Potansiyeli
NMK	Nöromusküler Kavşak
PBS	Fosfatla Tamponlanmış Solüsyon
PGA	Poliglikolik Asit
PLA	Polilaktik Asit
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Yerleşimlerine göre fasiyal paraliziye neden olabilecek durumlar	11
2.2. House - Brackmann fasiyal paralizi sınıflaması	13
3.1. Denek grupları ve sayıları	21
4.1. Deney gruplarında kolateral aksonal dallanma	31
4.2. Motor son plakların reinervasyon paterni	32
4.3. Vibriseal motor performansın biyometrik analizi	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Fasiyal sinir çekirdekleri ve bağlantıları	3
2.2. Fasiyal sinir ve dağılım alanı	5
2.3. Fasiyal sinirin stilomastoid foramen çıkımı sonrası dalları	6
2.4. Periferik sinir hücre yapısı	8
2.5. Periferik sinir yapısı ve saran bağ doku tabakaları	8
3.1. Deney hayvanı üzerinde cerrahi alanın hazırlanması	22
3.2. Fasiyal sinir gövdesi ve ana dallarının diseksiyonu	23
3.3. Fasiyal sinirin doğrudan tamiri	24
3.4. Fasiyal sinir uçlarının aorta tüpü ile entübülasyonu	24
3.5. Fasiyal sinir uçlarının aorta tüpü ile entübülasyonu ve tüp içerisine platizma kası yerleştirilmesi	25
3.6. Ratın vibriseal kılları	26
3.7. Vibriseal motor performansın biyometrik analizi	27
3.8. Fasiyal sinir çekirdeğindeki nöronların görüntülenmesi amacıyla floresan işaretleyicilerin uygulanması	28
3.9. Fasiyal sinir çekirdeğindeki nöronların sinir rejenerasyonu sonrası görünümü	29

1. GİRİŞ VE AMAÇ

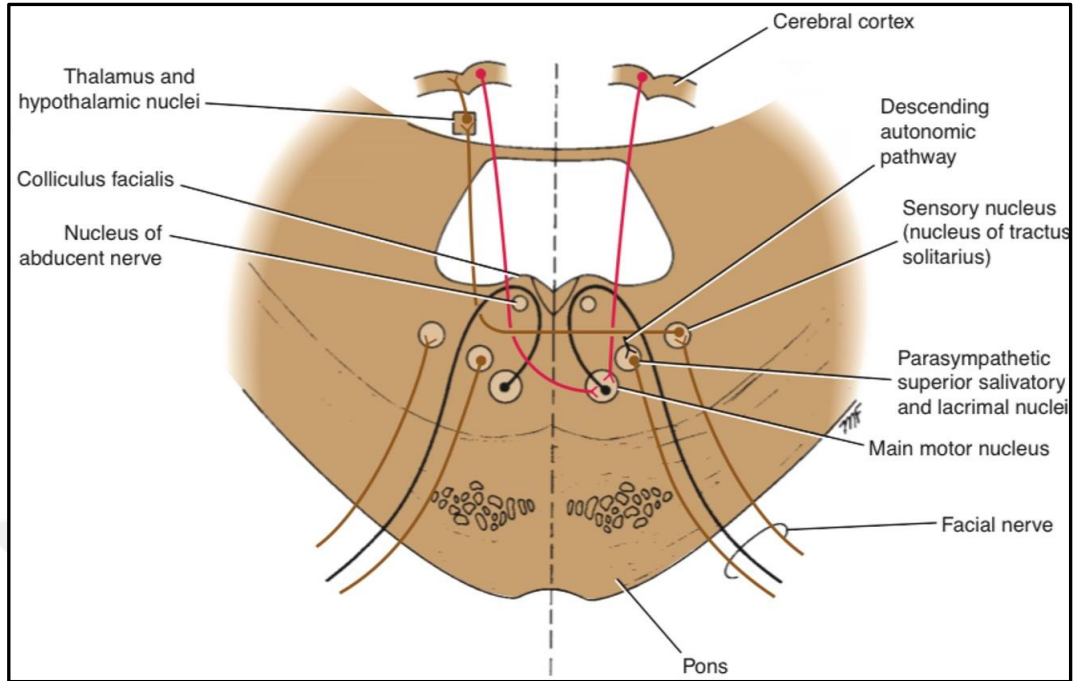
Yedinci kafa çifti olan fasiyal sinir karmaşık anatomiye sahip ve oldukça işlevsel bir kraniyal sinirdir. Motor, otonomik ve tat duyusunu içeren liflere sahiptir. Fasiyal sinirin uzun anatomik seyri ve komşulukları onu pek çok sebeple yaralanmaya duyarlı kılar. Fasiyal paralizi olarak isimlendirilen bu durum, konuşma, çiğneme, yutma gibi işlevsel kusurların yanında ciddi kozmetik ve ruhsal sorunlara yol açabilir. Yaralanmanın sık görülmesi ve ciddi sonuçları, bu alanda yoğun araştırmalara konu oluşturmıştır. Yaralanma sonrası kendiliğinden rejenerasyonun yavaş olması ayrıca rasgele akson büyümesi, sinkinezi, skar ve nöroma gelişimi gibi iyileşmeyi engelleyici birçok faktör söz konusudur. Bu etmenlerin en aza indirgenmesi ve en iyi işlevsel iyileşmeyi sağlayabilmek adına farklı yöntemler denenmiştir.

Sinir tamirinde altın standart yöntem kopuk liflerin uç uca birleştirilmesidir. Ancak ciddi bölgesel doku hasarı, proksimal ya da distal güdükte çekilme gibi sebeplerle gerilimsiz şekilde doğrudan birleştirme her zaman mümkün olmamaktadır. Bu durumda rejenere aksonların geçişine rehberlik etmesi adına köprü görevi görecektir sinir tüpleri, arter, ven ve sinir greftleri gibi yöntemler kullanılmıştır. Bunlar arasında en iyi sonuçlar sinir otogreftleri kullanılarak elde edilmiştir. Ancak geniş sinir hasarları için donör kaynağın sınırlı olması ve donör bölge komplikasyonları sebebiyle klinikte alternatif arayışlara gidilmiş ve farklı doku kaynaklı greftlerin sinir rejenerasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Fasiyal sinir uçlarının bir tüp içerisine yerleştirilmesi ve sinir uçları arasına ekstraselüler matriks proteinleri, olfaktor kılıf hücreleri, kemik kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin entübülasyonu veya denatüre edilmiş kas grefti kullanımının fasiyal sinir rejenerasyonuna etkilerine dair literatür verileri mevcuttur. Biz de bu çalışmada, ratlarda oluşturulan fasiyal sinir hasarında platizma kası ile doldurulmuş aortik tüp kullanımının fonksiyonel ve morfolojik sonuçlarını ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnsan Fasiyal Sinir Anatomisi

Fasiyal sinir motor, duyuşal, parasempatik lifler içerir ve tümüne ait çekirdekler de ponsta bulunur. Motor ekirdek, ponsun en alt bölümünde retiküler formasyon içerisinde yer alır. Her iki taraf motor korteksten gelen lifler burada sonlanır. st yüz kasları iki taraflı, alt yüz kasları ise sadece karşı taraf kortikonükleer liflerce kontrol edilir. Motor çekirdekten çıkan lifler geniş motor kökü oluşturur ve bu da altıncı sinir etrafında dolanarak serebellopontin köşede beyin sapından çıkar. Süperior salivator çekirdek motor çekirdek yakınında yer alır ve buradan çıkan parasempatik eferent lifler submandibular, sublingual, lakrimal ayrıca birtakım palatin, faringeal ve nazal mukozal glandlara ulaşır. Bu lifler nervus intermedius ya da duyuşal kök ismiyle motor kök ve vestibulokoklear sinir arasında uzanır. Duyuşal lifler sekretuar işlevi dışında fasiyal sinir dağılım alanındaki damarlar üzerine vazodilatör etkiye de sahiptir. Duyuşal ekirdeğı solitar traktus çekirdeğinin st bölümüdür. Dilin n üçte ikisinden tat duyuşunu alan lifler korda timpani, büyük petrozal sinir ve nervus intermedius içinde taşınarak bu çekirdekte son bulur. Ayrıca dış kulak yolundan çıkan duyuşal lifler vagus sinirinin aurikular dalı ile birlikte spinal trigeminal çekirdekte sonlanır. Yüz kaslarından çıkan ve derin duyu içeren lifler göz ve çiğneme kaslarından gelenlerle birlikte trigeminal mezensefalik çekirdeğe ulaşır. Ayrıca orta fossa meninks ve arteriyel yapılardan kaynaklı aferent lifler de büyük petrozal sinir içerisinde taşınır. şekil 2.1’de fasiyal sinir çekirdekleri ve bağılantıları gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Fasiyal sinir çekirdekleri ve bağlantıları (Kaynak: Snell RS: Clinical Neuroanatomy, 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2010).

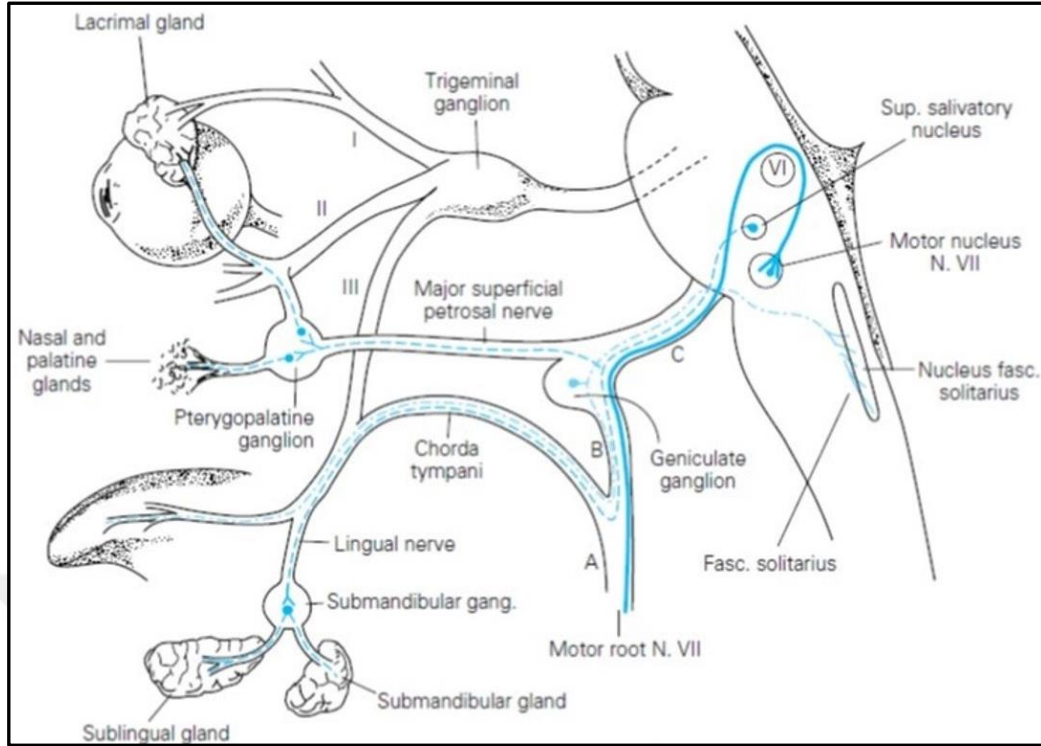
Fasiyal sinir motor kökü ve nervus intermedius, vestibulokoklear sinir ile birlikte serebellopontin köşede bulboPontin sulkustan çıkıp, internal akustik kanala yol alır ve aynı meningeal kılıf içerisinde kanala girerler. Meatus sonunda kılıftan çıkarak temporal kemiğin petröz parçası içerisindeki fasiyal kanalda seyrederek. Sonrasında kemik vestibül ve koklea arasında laterale doğru ilerler, epitimpanik reses medial duvarı düzeyinde geriye doğru dik açılı bir kıvrım yapar (fasiyal genikulasyon). Bu noktadan itibaren sinir, timpanik kaviteyi mastoid antrum ve hava hücrelerinden ayıran bir kemik bölme içerisinde aşağı doğru yol alıp, stilomastoid forameninden çıkar. İnternal akustik kanalda nervus intermediusun bazı fasikülleri vestibulokoklear sinir ile bağlanır ve timpanik pleksusa taşınır. Korda timpani dalı foramenin 6 - 8 mm üzerinden ayrılır.

Genikulat ganglionda bulunan psödoünipolar hücrelerin periferik uzantılarının çoğunluğunu korda timpani ve büyük petrozal sinir içerisinde taşıyan tat duyusu lifleri oluşturur. Bunların santral uzantıları ise nervus intermedius ile solitar traktus çekirdeğine taşınır. Tat duyusu lifleri dışındaki periferik uzantılar aferent vasküler, glandular, meningeal ve duyuşal lifleri içerir. Parasempatik

eferent lifler ise yine korda timpani, büyük petrozal sinirde taşınarak daha periferde bulunan pterigopalatin ve submandibular ganglionda sinaps yapar ve hedef dokulara ulaşırlar.

Stilomastoid foramen düzeyinde fasiyal sinirin, vagusun aurikular dalı, glossofaringeus, büyük aurikular, aurikulotemporal sinirler ve internal karotid pleksusla bağlantıları vardır. Yüzde fasiyal ve trigeminal sinir dalları arasında birçok bağlantı bulunur. Bunlar dışında fasiyal sinir posterior aurikular dalı ile büyük ve küçük oksipital sinirler, yine fasiyal sinirin servikal dalı ile transvers servikal sinirler arasında bağlantılar mevcuttur. Foramen çıkışında fasiyal sinir, stiloid proçes ile stilohyoid kas ve digastrik kasın posterior kısmı arasında anterolateral seyrederek ve posterior aurikular dalını verir. Sonrasında eksternal akustik meatusun gerisinde yukarı eğim gösterir, burada aurikular ve oksipital iki dal verir. Büyük olan oksipital sinir süperior nukal çizgi üzerinde seyrederek ve oksipitofrontal kasın oksipital kısmını inerve eder.

Stilomastoid foramenden çıktıktan sonraki 1,5 cm'lik bölümde sinir, eksternal karotid arter ve retromandibular ven üzerinden geçerek posteromedial yüzeyinden parotis bezine girer. Bu düzeyde temporofasiyal ve servikofasiyal dallara ayrılır. Temporofasiyal dalı parotis bezi içerisinde temporal ve zigomatik dallara, servikofasiyal dalı ise bukkal, lingual, marjinal mandibular ve servikal dallara ayrılır. Tüm dallar birbiri ile ilişkili halde parotid pleksusu oluşturur (1).

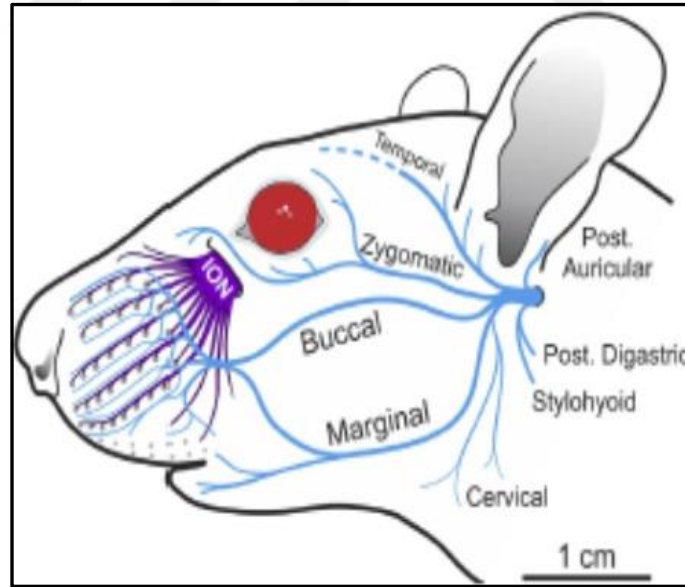


Şekil 2.2. Fasiyal sinir ve dağılım alanı. Motor lifler koyu, parasempatik lifler kesikli, özel duyu lifleri ise uzun kesikli çizgi ve noktalarla belirtilmiştir (Kaynak: Carpenter MB, Sutin J: Human Neuroanatomy, 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1982).

2.2. Rat Fasiyal Sinir Anatomisi

Ratlarda fasiyal sinir çekirdeği pons ve rostral medullada yer almaktadır. Çekirdek 4500 - 5500 multipolar motor nöron içermekte olup, beş alt çekirdeğe bölünmüştür. Bunlar; medial, lateral, dorsal, ventromedial ve intermediate çekirdeklerdir. Lifler insanlardaki gibi dorsomedial seyirle abducens çekirdeğinin etrafında döner. Daha sonra ventral olarak ilerleyip, medullanın ventrolateral yüzünden çıkar, internal akustik meatusdan geçerek temporal kemik içinde seyreder ve stilomastoid forameninden kafatasını terk eder. İlk dalları internal ve kaudal aurikular sinirlerdir. Bu sinirler aural, hyoid ve digastrik kasın kaudal kısmını inerve eder. Ana trunkus mandibula çevresinde dönerek yüze girer ve parotis bezi ile masseter kası arasında seyreder. Parotis bezine girdikten sonra beş dal verir. Bunlar sırasıyla; temporal, zigomatik, bukkal, marjinal mandibular ve servikal dallardır. Marjinal mandibular dal üst ve alt olmak üzere iki dala ayrılır. Alt dal, alt dudak kaslarını inerve ederken, üst ve bukkal dal birleşip, distal pes adı verilen siniri oluştururlar (Şekil 2.3). Bu sinir, “whisker pad” denilen bıyıkların

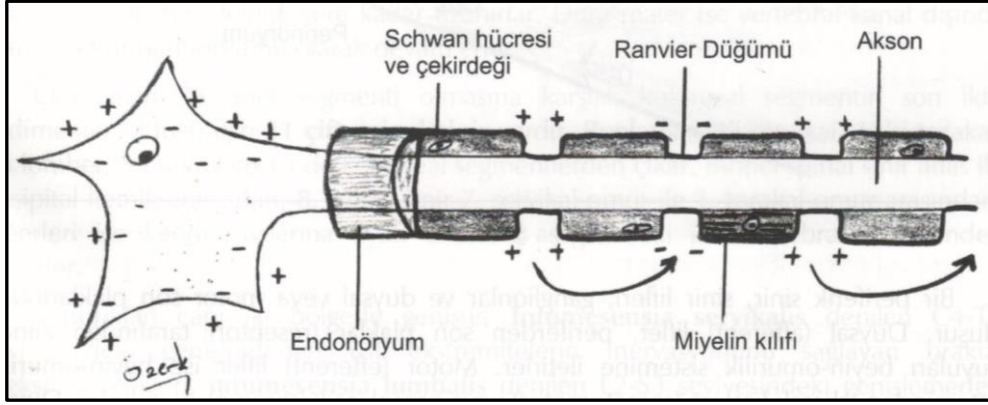
yastıkçıklarında kılların hareketini kontrol eden kasları inerve eder. Whisker pad üst, orta ve alt olmak üzere 3 kısma ayrılır. Distal pes üç kola ayrılarak whisker pad kolonlarını, burnu ve alt dudak kaslarını inerve eder. Zigomatik, bukkal ve marjinal mandibular dalların inerve ettiği kasların motor nöronlarının fasiyal nükleustaki konumları miyotopik ya da somatotopik organizasyon olarak tanımlanmaktadır. Normal fizyolojik koşullar altında rat burun kılları erekte ve anterior olarak konumlanmıştır. Kılların kendiliğinden çırpışması “whisking” ya da “sniffing” olarak bilinir ve saniyede 5 - 11 kez olmaktadır. Bu motor aktivitenin anahtar hareketi piloerektör kaslarla vibriseal kılların protraksiyonu ve retraksiyonudur. Protraksiyon kıl foliküllerinin rostral yüzü etrafında bir askı oluşturur ve bu kasların kasılmasıyla folikülün tabanı kaudale doğru çekilir. Böylece kılların distalleri öne doğru hareket eder. Buna karşın retraksiyon hareketi esas olarak derin bağ dokuların elastik yapısına bağlıdır. Tüm vibriseal kaslar fasiyal sinirin marjinal mandibular ve bukkal dalları tarafından inerve edilir. Fasiyal sinirin kesilmesi ve onarımını takiben kıllar başlangıçta düşer ve hareketsizdir. Sonrasında ise zamanla ağız seviyesine doğru yükselerek posterior konumlanırlar (2-4).



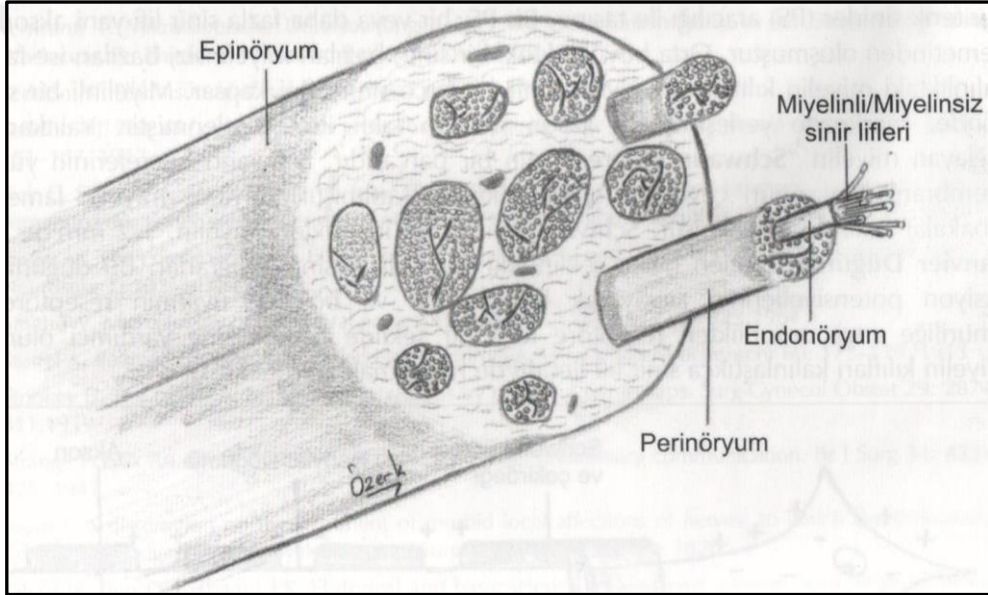
Şekil 2.3. Fasiyal sinirin stilomastoid foramen çıkımı sonrası dalları (mavi). Makro vibrisa folikülleri gri noktalar ile gösterilmiş olup, beş ana kolon mevcuttur. Bukkal ve mandibular dallar bu vibrise yastıkçıklarına girmeden önce birleşerek distal pes denilen yapıyı oluşturmaktadır. **ION**; İnfraorbital sinir (Kaynak: Heaton JT, Sheu SH, Marc H Hohman MH et al. Rat whisker movement after facial nerve lesion: evidence for autonomic contraction of skeletal muscle. Neuroscience 2014;18;265:9-20).

2.3. Periferik Sinir Histolojisi

Periferik sinirler duyu, motor ve otonomik sinir lifleri yani akson demetlerinden oluşmaktadır. Orta büyüklükteki bir periferik sinir, bazıları miyelinsiz, bazıları ise farklı kalınlıkta miyelin kılıf ile çevrelenmiş binlerce sinir lifini içerir. Schwann hücreleri tarafından yapılan miyelin akson çevresinde tabakalar halinde lameller oluşturur ve yalıtkanlığı sağlar. Miyelin kılıflar 1-2 mm’de bir Ranvier Düğümü denilen halka şeklindeki yapılarla kesintiye uğrar. Bu düğümler aksiyon potansiyelinin sıçrayarak ilerlemesine ve hızlı iletme yardımcı olurlar (5). Miyelin kılıfları kalınlaştıkça sinir lifi iletimi de hızlanmaktadır (Şekil 2.4). Miyelinli ya da miyelinsiz tüm sinir lifleri Schwann hücrelerinin protoplazmik membranları ile kaplanmıştır. Bunların dışında endonöryum denen bir tabaka bulunur. Endonöryum santral sinir sisteminde pia materin karşılığıdır. Bu destekleyici bağ doku her akson ve ilgili Schwann hücresi etrafında endonöral tüpleri oluşturur. Sinir lifi grupları yani fasikülleri saran bağ doku tabakası ise perinöryum olarak adlandırılır. Endonöryum ve perinöryum tabakaları longitudinal seyirli kolajen lifler içermektedir. Sinirin gerilmelere karşı olan direncinin önemli bir kısmını perinöryum sağlamaktadır. Tüm siniri saran bağ doku tabakası ise epinöryumdur. Epinöryum, gevşek areolar bir bağ dokusu olup, kolajen ve elastik lifler içerir. İç bölümü dış basınca karşı koruyucu bir yastık gibi görev yapar ve fasiküller arasındaki longitudinal hareketi kolaylaştırır. Dış bölümü ise tüm fasikülleri bir arada tutarak sinirin yapısal bütünlüğünü korur (Şekil 2.5). Epinöryumla devam eden gevşek bir doku tabakası olan mezonöryum sinir boyunca devamlılık göstererek, sinirin kanlanmasına ve longitudinal akımının devamına katkı sağlar. Sinir dahili ve harici kan dolaşımına sahiptir, büyük damarlar epinöryum ve perinöryumda iken, endonöryumda akım kapiller ağ ile sağlanır. Sinir kan akımı gerilmeye oldukça duyarlıdır. Tavşan tibial siniri üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada %8’lik bir gerilmenin sinir içi mikrovasküler akımı bozmak için yeterli olduğu, %15’lik bir esnemenin de dolaşımı tam olarak kestiği gösterilmiştir (6). Periferik sinir onarımlarında sinir greftleri ve tüplerin kullanımı, gerginlik oluşturmadan sinir uçlarının bir araya getirilmesine ve böylelikle de dolaşımın korunarak rejenerasyon sürecinin sağlıklı ilerlemesine katkı sağlayabilmektedir.



Şekil 2.4. Periferik sinir hücre yapısı (Kaynak: Demircan N, Zileli M: Periferik Sinir Cerrahisi, Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, 2008)



Şekil 2.5. Periferik sinir yapısı ve saran bağ doku tabakaları (Kaynak: Demircan N, Zileli M: Periferik Sinir Cerrahisi, Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, 2008).

Hücre gövdelerinin periferik aksonal uzantılarının içinde bulunan sitoplazmasına aksoplazma adı verilir. Aksoplazmanın transportta görev alan nörofilaman ve mikrotübül gibi yapıları mevcuttur. Antegrad ve retrograd olarak işlev görüp, hem aksonun canlılığının korunması için gerekli besin ve ortamı sağlar hem de katabolizma sonucu oluşan ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılmasında rol oynar. Beyin gibi periferik sinirleri de immünolojik olarak dolaşımdan ayıran bir bariyer vardır. Bu bariyeri endonöryumun endotel hücreleri ve perinöryumun iç tabakası oluşturur. Salınan bariyer sadece basit şekere geçirgendir (7,8).

2.4. Periferik Sinir Yaralanmalarının Fiziopatolojisi

Periferik sinirler yaralanmaları gerilme, bası altında kalma, kesici cisim, ateşli silah, kimyasal madde ya da yanıklara bağlı oluşabilir. Sinir onarımı sonucu iyileşmenin zamanı ve başarısı yaralanma derecesi ile ilişkilidir. Oluşan hasarın sınıflandırılmasında en çok Seddon ve Sunderland sistemleri kullanılmaktadır.

Seddon'a göre sinir hasarı üç kategoriye ayrılmıştır: Nöropraksi en hafif hasar tipidir. Bu tipte yaralanmalarda anatomik olarak sinir salimdir. Muhtemelen segmental demiyelinizasyon sebebiyle bölgesel, geçici bir iletim bozukluğu ve kısa süreli işlev kaybı söz konusudur. Aksonotimeziste perinöryum ve epinöryum korunmakla birlikte akson ve çevresindeki miyelin kılıfta tam kesi vardır. Yaralanma noktasının distalinde ortaya çıkan Wallerian dejenerasyona bağlı tam denervasyon gelişir. Bu tipte yaralanmalarda iyileşme oranları yüksektir zira sinir çevresindeki korunmuş mezenşimal dokular hedef organın reinervasyonu için aksonların filizlenmesine kılavuzluk eder. Aksonlar endonöral tüpler boyunca günde 1-2 mm olarak yenilenirler. Nörotimeziste ise anatomik olarak sinirin bütünlüğü tamamen kaybolmuştur. Tam işlev kabı söz konusudur ve cerrahi müdahale olmadan iyileşme şansı yoktur (9).

Sunderland'a göre ise hasar beş kategoride sınıflandırılmıştır: Birinci derece hasarlar Seddon'a göre nöropraksi, ikinci derece olanlar ise aksonotimezis eş değeridir. Üçüncü derecede aksonlarda ve kısmi olarak endonöryumda hasar söz konusudur. Perinöryum salim olmakla birlikte gelişen nedbe dokusu nedeniyle liflerin büyüme hızı yavaştır ve rejenerasyon tam olmaz. Dördüncü derecede epinöryum hariç sinirin tüm bölümleri hasarlanmıştır. Gelişen yoğun nedbe dokusu liflerin yeniden büyümesini kısıtlar. Yaralanmayı takiben üç ay sonunda iyileşmeye dair kanıtların olmaması bu tipte bir hasarı düşündürür ve bu durumda cerrahi müdahale gerekmektedir. Beşinci derecede ise sinir bütünlüğü tamamen bozulmuş olup, cerrahi tedavi olmaksızın iyileşme söz konusu değildir (10).

Periferik sinir yaralanması sonrası hasarın proksimal, distalindeki aksonlarla birlikte kas, duyu reseptörleri ve serebral kortekste de bir dizi değişiklikler meydana gelir. Sinir liflerinde rejenerasyon başlamadan önce bir dejenerasyon süreci gelişir. Rejenerasyonun başarısı sinirde oluşan hasarın şiddeti ve sonrasında gelişen dejeneratif değişikliklerle ilişkilidir (11). Wallerian dejenerasyonda ilk olarak

yaralanmadan sonraki saatler içerisinde akson ve miyelin yapısında parçalanmalar izlenir. Yaralanmadan 48 - 96 saat sonrasında aksonal devamlılık kaybolur ve iletim durur. Yaralanma sonrası 24 saat içerisinde Schwann hücreleri aktive olup, dejenere akson ve miyelinin temizlenerek makrofajlara geçişine yardım eder. Hasarlı bölgeye intikal eden makrofajlar Schwann hücreleri ile birlikte birkaç aylık süreçte hasarlı bölgenin temizlenmesi için birlikte çalışırlar. Yaralanma sonrası endonöral hücrelerde çoğalma izlenir. Bu hücrelerden salgılanan histamin ve serotonin kapiller geçirgenliği artırıp, makrofaj göçünü sağlar. Ağır hasarlarda sinir uçları, Schwann hücreleri, kapillerler, fibroblastlar, makrofajlar ve kolajen liflerden oluşan şişkin bir doku içerirler. Rejenere aksonlar proksimal uçtan gelişerek gelir ancak bu bariyer nedeniyle ilerleyemez ve nedbe dokusu içerisinde sarmal oluşturur. fibroblastlar çoğalarak, hasarlı kısımda yoğun fibröz nedbe dokusu gelişimine neden olur. Ağır hasarlarda dejenerasyon hücre gövdesine doğru ilerleyerek proksimal kısımda da yıkıma neden olabilir. Rejenerasyon döneminde akson ve hücre gövdelerinin iyileşmesi birbirine bağımlıdır. İşlevsel olarak periferik bağlantı olmadan hücre gövdesi iyileşmezken, akson çaplarının büyüklüğü de hücre gövdesinin iyileşmesine bağlıdır. Yaralanma bölgesinde nörotrofik ve nörotropik değişiklikler de meydana gelir. Nörotrofizm yeni aksonun gelişimi ve matürasyonu için salgılanan faktörlerle, nörotropizm ise belirli bir hedefe doğru ilerleyen aksonun büyümesi ve rehberliği ile ilgilidir. Büyümüş sinir lifi yeterli nörotropik rehberliği almaz ve hedef organa erişimde yetersiz kalırsa lokal nöroma gelişebilir. Nöromalar, özellikle nedbe dokusu ile baskılandıklarında ağrılıdır (12). Sinirdeki nörofizyolojik değişikliklere ek olarak nöral iletinin kaybına bağlı olarak kas hücrelerinde atrofi başlar. Ayrıca periferik sinir hasarı sonrası motor ve duyuusal kortekste işlevsel yeni organizasyonlar tanımlanmıştır (13-15).

FASİYAL PARALİZİ

2.4.1. Tanım ve Etiyoloji

Fasiyal paralizi, bilinen ya da bilinmeyen sebeplerle fasiyal sinirin primer motor korteks, pons ve hedef organlara olan sinir yolağının herhangi bir yerinde anatomik ve/veya fonksiyonel devamlılığının bozulması sonucu oluşan klinik bulguların bütünü olarak tanımlanabilir. Oluşturduğu işlevsel kayıplar ve kozmetik sorunlar sebebiyle ciddi sosyal ve ruhsal sıkıntılara yol açabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) istatistiklerine göre en sık nedenleri sırasıyla; idiyopatik, enfeksiyon, tümörler, iskemi (serebrovasküler hastalıklar) ve travmadır (16). Fasiyal paraliziler lezyonun anatomik yerleşimine göre periferik ya da santral, derecesine göre de tam veya kısmi olarak sınıflandırılabilir. Şayet lezyon ponstaki çekirdeğin üzerinde (supranükleer) yani motor korteks ya da internal kapsül düzeyinde ise bu durumda santral fasiyal paraliziden bahsedilir ve üst fasiyal kaslar bilateral kortikal inervasyona sahip olduğundan etkilenmez. Fasiyal paraliziye neden olabilecek lezyon intrakraniyal, temporal kemik içerisinde ya da ekstrakraniyal olabilir. Çizelge 2.1’de yerleşimlerine göre fasiyal paraliziye neden olabilecek durumlar sıralanmıştır.

Çizelge 2.1. Yerleşimlerine göre fasiyal paraliziye neden olabilecek durumlar

İntrakraniyal	İntratemporal	Ekstrakraniyal
Doğumsal Anomaliler - Fasiyal çekirdek agenezisi Tümörler -Serebellopontin köşe tümörleri Enfeksiyonlar - Ensefalit - Menenjit - İntraserebral abse Dejeneratif Hastalıklar Travma Vasküler Bozukluklar	Enfeksiyonlar - Herpes zoster - Otitis media - Malign otitis eksterna Neoplaziler - Kolestatom - Glomus tümörü - Nörinom - Skuamoz hücreli karsinom - Rabdomiyosarkom - Metastatik tümörler - Orta kulak tümörleri - Mastoid kemik tümörleri Travma Cerrahi Girişimler Doğumsal Anomaliler	Doğumsal Anomaliler - Motor ünite aplazisi - Möbius sendromu - Hemifasiyal mikrozomi Neoplaziler - Parotis tümörleri - Cilt ve kemik tümörleri - Orta/dış kulak tümörleri - Fasiyal sinir nörinomu - Metastatik tümörler Enfeksiyonlar Travma İdiyopatik

En sık görülen periferik fasiyal paralizi tablosu idiyopatik olandır ve Bell paralizi olarak da bilinir. Tüm olguların %60 - 75'ini oluşturmaktadır. Nedeni tam bilinmese de en çok kabul gören hipotez latent herpes virüs reaktivasyonu ve otoimmün cevaptır. Gelişen inflamasyon ve ödemle sinir fasiyal kanalda basıya uğramakta, bu da sinirde iskemiye neden olup, akson ve miyelin kılıfta hasarla sonuçlanmaktadır. Bell paralizisinin prognozu oldukça iyidir ve olguların %85-97'sinde tam iyileşme görülmektedir (17-20). Travmalar sonucu gelişen temporal kemiğin özellikle transvers kırıklarında fasiyal sinir timpanik segmentte ve genikulat ganglion düzeyinde yaralanabilir (21). Periferik fasiyal paraliziye yol açabilecek enfeksiyöz nedenler arasında; varisella zoster virüse bağlı Ramsay-Hunt sendromu, otitis media, maligniteler arasında; serebellopontin köşe, parotis bezi tümörleri sayılabilir. Ayrıca oral, maksillofasiyal, baş boyun, otolojik ve intrakraniyal cerrahiler sonrası yatrogenik olgulara rastlanabilir (22,23).

2.4.2. Klinik Bulgular

Fasiyal sinir gerek fonksiyonel ve gerekse emosyonel olarak görev yapan yüz kaslarının inervasyonundan sorumludur. Bu kaslar, gözün korunması, burun hava yolu açıklığının sağlanması, çiğneme, konuşma, tat alma ve kulağın yüksek frekanslı seslerden korunması gibi işlevlerde görev alır. Ayrıca üzüntü, sevinç, şaşkınlık, korku gibi emosyonel durumların ifadesini sağlarlar. Bu emosyonel mimik hareketlerin kaybı ve konuşmanın bozulmasıyla hastanın sosyal çevreyle olan ilişkisi olumsuz olarak etkilenir. Bulgular paralizi süresinin uzaması, yer çekimi etkisi ve ilerleyen yaş ile birlikte kötüleşebilir.

Orbikularis okuli kası, gözün dış etkenlere karşı korunmasını ve göz yaşının medialden laterale doğru dağılmasını sağlayarak gözün nemli kalmasını sağlar. Fasiyal paralizi ile bu kasın çalışmaması sonucu göz açık kalır ve bu duruma lagofthalmus adı verilir. Gözde kuruluk sonucu ortaya çıkan keratit tablosu körlükle dahi sonuçlanabilir. Ayrıca göz kapağındaki düşüklük nedeniyle görme alanı da olumsuz olarak etkilenebilmektedir. Burun çevresindeki kasların tutulması burun açıklığını engelleyip, nefes almada güçlük yaratabilir. Yine soluk alma sırasında havanın temizlenme ve nemlenmesini engelleyerek enfeksiyona yatkınlık oluşturabilir. Diğer önemli bir sorun oral bölgedeki kasların paralizisidir.

Orbikularis oris kasının felci sonucu yeme, içme ve konuşmada zorluk ortaya çıkar. Ayrıca oral kontinansın bozulmasıyla ağız içi sekresyon ve sıvı gıdalarda dışarı taşmalar izlenebilir. Dudaklar bükülerek çıkarılan harflerde ortaya çıkan zorluk şeklinde artikülasyon problemleri ile karşılaşılabilir. Buksinatör kasın felci sonrası ortaya çıkan çiğneme problemleri, gıdaların ağız içindeki olukta kalması ile ağız hijyeninde bozulma ve ağızda kötü kokulara neden olabilmektedir. Yine tat duyusu kaybı iştahsızlıkla sonuçlanabilmektedir (24). Şekilde fasiyal sinirdeki hasarın yerine göre ortaya çıkan klinik bulgular gösterilmiştir. Ayrıca tabloda fasiyal paralizinin ciddiyet ve prognozunu değerlendirilmesinde en sık kullanılan skorlama olan House-Brackmann sınıflaması verilmiştir (Çizelge 2.2) (19).

Çizelge 2.2. House - Brackmann fasiyal paralizi sınıflaması

Derece	Hasar	Tanım
1	Normal	Bütün alanlarda normal, simetrik fonksiyon.
2	Hafif Derecede Disfonksiyon	Yakın inspeksiyon ile farkedilebilen hafif güçsüzlük, minimal efor ile göz kapatılabiliyor, maksimum efor ile gülme sırasında hafif asimetri, zorlukla fark edilebilen sinkinezi, kontraktür veya spazm yok.
3	Orta Derecede Disfonksiyon	Şekil bozukluğuna yol açmayan bariz güçsüzlük, kaşını kaldıramayabilir, maksimum efor ile göz tam kapatılabilir, ağız hareketi güçlü ancak asimetrik, bariz ancak şekil bozukluğuna yol açmayan sinkinezi, kütle hareketi veya spazm yok.
4	Orta-İleri Derecede Disfonksiyon	Bariz, şekil bozukluğuna yol açan güçsüzlük, kaş kaldırılamaz, maksimum efor ile göz tam kapatılamaz, ağız hareketleri asimetrik, şiddetli sinkinezi, kütle hareketi veya spazm mevcut.
5	Ciddi Disfonksiyon	Zorlukla farkedilebilen hareket, göz tam kapatılamaz, ağız köşesinde hafif hareket mevcut, sinkinezi, kontraktür ve spazm genellikle yok.
6	Tam Paralizi	Hiç hareket yok, sinkinezis, kontraktürü ve spazm yok.

2.4.3. Tanı

Periferik fasiyal paralizide lezyon seviyesinin tespitini amaçlayan bir takım topografik testler tanımlanmıştır. Bunlar arasında göz yaşı için Schirmer testi ayrıca tükürük salgısı, stapes refleksi ve tat duyusu testleri sayılabilir (25). Elektrofizyolojik testler tedavi planı ve prognozun belirlenmesinde en yararlı yöntemlerdir. Elektronörografide (ENG) proksimal olarak verilen bir elektriksel uyarı ile mimik kaslarından aksiyon potansiyelleri kaydedilir. Bu şekilde kasların elektriksel uyarıya olan cevabı ölçülerek, sinir hasarının distalinde oluşan nöral degradasyonun derecesi belirlenebilir. %90'ın üstü denervasyona sahip hastalarda iyileşmenin kısmi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hasarın ciddiyeti ile tam denervasyon hızı arasında da doğru orantı bulunmaktadır. Tam kesilerde Wallerian dejenerasyon 3-5 gün içinde tamamlanırken, aksonotomezis olgularında 14-21 günü bulabilmektedir. Elektromiyografide (EMG) motor ünite aksiyon potansiyelleri (MUAP) kaydedilir. Motor ünite, motor nöron ve bu nöron tarafından inerve edilen kas liflerinden oluşmaktadır. Anormal istirahat potansiyeli nöral dejenerasyonun göstergesidir ve sıklıkla yaralanma sonrası 10-14. günlerde görülmektedir. Akut dönemde denerve olan kas lifleri tarafından üretilen asetilkolin reseptörlerinin tüm kas lifi membranı boyunca yayılmasıyla oluşan spontan deşarjlar kasta fibrilasyonla sonuçlanmaktadır. Normal istemli kasılan kasta motor ünite 2-4 fazlıdır. Şayet motor ünite 5 veya daha fazla fazlı ise polifazik olarak değerlendirilir ve bu durum reinervasyona işaret eder. İstemli EMG'nin elde edilebilmesi tam sinir kesisini dışlar. Ayrıca testin 10-14. günlerde yapılması tanısal değerini artırır (26-31).

2.4.4. Tedavi

Periferik fasiyal paralizi tedavisinde cerrahi ve cerrahi dışı yöntemler uygulanmaktadır. Cerrahi dışı ya da medikal tedaviler arasında; ilaç ve fizik tedavi yöntemleri sayılabilir. Fizyoterapi; sıcak havlu uygulamaları, yüz masajları, yüz ve konuşma egzersizlerini içermektedir. İlaç tedavileri içerisinde kortikosteroidler (prednizolon), antiviral ajanlar ve analjezikler kullanılmaktadır. Korneanın açıkta ve kuru olması yaralanmaya açık hale getireceğinden göz koruması tedavinin önemli bir parçasıdır.

2.4.4.1. Cerrahi tedaviler

Uygulanan cerrahi tedavi yöntemleri; statik, dinamik ve tamamlayıcı işlemler olarak sınıflandırılabilir. Statik yöntemler; otolog veya sentetik çeşitli askı materyalleri, göz kapağına ağırlık ve yay implantasyonlarını içerir. Tamamlayıcı işlemler içerisinde eksizyon, blefaroplasti ve yüz germe gibi yumuşak doku pozisyonlandırması yöntemleri sayılabilir. Dinamik yöntemler ise primer ya da sinir greftleri, sentetik ve doğal sinir tüpleriyle onarım, sinir transferleri, bölgesel kas transpozisyonu veya transferleridir.

Doğrudan Fasiyal Sinir Onarımı

Kesilen fasiyal sinirin doğrudan uç uca anastomozu altın standart onarım tekniğidir. Sinirin mobilize edilerek ve uçların gerilme olmaksızın birleştirilmesi rejenerasyon sürecinde doğru hedefe aksonal büyümeye imkan sağlar (32). Ancak doku kaybı olan yaralanmalarda ya da kronik süreçte atrofi sebebiyle uçlar kolaylıkla yaklaşmayabilir ve gerilirler. Bu gerilim sinirin kan dolaşımını olumsuz etkiler. Yine gerilme nedeniyle endonöral bağ dokuda kopmalar olabilir ve artan fibroblastik aktivite ile nedbe dokusu gelişebilir. Doğrudan onarım epinöral ya da fasiküler anastomoz tekniği ile sağlanabilir. Epinöral teknik daha kolay ve hızlıdır ayrıca sinirin internal yapısını ve beslenmesini daha az etkiler. Öte yandan fasiküler onarım ise daha kesin anatomik reinervasyon sağlama potansiyeline sahiptir. Doğru fasikülün anastomozu sinir yüzeyindeki yapıların ve epinöral damarların pozisyonu ile doğrulanabilir (33,34). Dikiş materyali olarak en az 10/0 naylon sütürler kullanılmakta ve bu da nedbe dokusu gelişimini en aza indirmektedir. Bununla birlikte kullanılan materyale karşı yabancı cisim reaksiyonu, sinir uçlarında fazla manipülasyon, iğne penetrasyonu ile doku travması gibi dezavantajları da sayılabilir (35). Bu sebeplerle uçların lazerle kaynak ya da doku yapıştırıcıları ile bir araya getirilmesi gibi alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Fibrin doku yapıştırıcıları plazmadan üretilirler ve kolajen üreten fibroblast büyümesini kolaylaştırırlar. Yapıştırıcılar kolayca uygulanıp, uçlar arasında koaptasyon sağlanabilir ve manipülasyon az olduğu için sinir uçlarında ilave travma en aza indirgenmiş olur (36-39).

Sinir Greftleri

Sinir tamirinde ön önemli husus uçların gerilimsiz şekilde birleştirilmesidir. Zira siniri besleyen damarlar gerilmeye çok duyarlıdır. Bu şekilde yapılan anastomoz sinirdeki dolaşımın bozulmasını engeller. Primer onarımla bunun başaramadığı durumlarda uygulanan yöntemlerden biri sinir greftlerinin kullanımıdır. Bu durumda hem proksimal hem distal güdükte anastomoza ihtiyaç duyulur ve rejenere aksonlar distal güdüğe ulaşmadan önce araya konulan grefti ve iki sütür hattını geçmek zorundadır. Bu da iyileşmeyi geciktiren bir faktördür. Anastomozlar sütür ya da doku yapıştırıcısı kullanılarak yapılabilir. Gerek duyu ve gerekse de motor sinirler donör greft olarak kullanılabilir Sinir greftleri hesaplanan uzunluktan %15-20 daha uzun kesilmelidir (32, 40-44).

Sinir greftinin en önemli avantajlarından bir tanesi bazal laminaya sahip olmasıdır. Bu sayede rejenerasyonda oldukça önemli olan Schwann hücrelerinin üretimi mümkün olur. Bahsedildiği üzere bu hücreler rejenere aksonlara klavuzluk etmelerinin yanında birçok büyüme faktörünü salgılayıp, rejenerasyon ve diferensiyasyona yardımcı olurlar. Bununla birlikte ilave kesi gerektirmesi ve donör bölgesi sorunları gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Klinikte en çok kullanılan donör sinirler; sural, lateral, medial antebrakial kutanöz, büyük auriküler ve vastus lateralisin motor siniridir. Sinir greftinin proksimal ucu, alıcı sinirin proksimal ucuna, distali ise distal ucuna getirilir ve böylelikle aksoplazmik akımın aynı doğrultuda devamı sağlanır ayrıca aksonların dallar içinde kaybolması önlenir (45).

Büyük auriküler sinir, fasiyal sinire yakınlığı, benzer çapı ve donör bölge morbiditesinin düşük olması nedeniyle tercih edilir. Şayet uyluk anterolateral serbest flep çıkarılmışsa vastus lateralisin motor siniri de kullanılabilir. Bu sinirin uzun ve çoklu dallanma göstermesi nedeniyle fasiyal sinirin birden fazla dalının greftlenmesi gereken durumlarda kullanımı uygun olabilir. Ayrıca genel olarak motor sinir greftiyle yapılan onarımlarda duyu sinirlerine göre sonuçların daha başarılı olması ve bu bölge özelinde ciddi ek morbidite yaşanmaması avantajları arasındadır (32).

Otogreftler dışında kadavra kaynaklı allogreftler de sinir onarımında kullanılmaktadır. Hatta bu greftler hücreden arındırılıp, ekstraselüler matriksleri temizlenerek immün yanıtı muaf kalabilmeleri sağlanmıştır (46,47).

Sinir Tüpleri

Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanındaki gelişmelerle sinir greftlerine alternatif olarak tüplerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Kolay uygulanabilmesi, büyük hasarlarda kullanılabilmesi, sınırlı nedbe dokusu oluşumu, düşük immün cevap ve donör bölge morbiditesinin olmayışı gibi avantajları bulunmaktadır. Tüpler, sinirin kendi ürettiği nörotropik faktörlerin tüp içerisinde muhafaza edilerek uygun mikroçevrenin oluşumuna katkı sağlar, hedefin reinervasyonu için aksonal filizlenmeye rehberlik eder, fibröz doku infiltrasyonu için bir bariyer oluşturur ve ekzojen büyüme faktörlerinin uygulanabilmesi için de bir araç görevi görür. Sinir tüpünün iki ucundaki güdüklerden yeterli miktarda Schwann hücre göçünün sağlanması, kısa sürede fibrin matriks içinde güdüklerin yeniden birleşmesi ve rejenerasyon tamamen oluşana dek luminal yapının sürdürülmesi fonksiyonel iyileşmeye katkı sunan üç temel unsurdur.

Sinir tüpleri biyolojik olarak ayrışabilir ya da kalıcı materyaller içerebilirler. Silikon gibi biyolojik olarak yıkılamayan tüpler, devamlı inflamasyona neden olması, sinirde kronik bası oluşturmaları ve çıkarılması için ikinci bir girişime gerek duyulması gibi dezavantajlara sahiptir. Bu sebeple, sinir tüplerinin yapımında biyolojik olarak ayrışabilir farklı dokular, doğal ve sentetik polimerler ya da hibrid yapılar kullanılmıştır. Bunlar arasında kolajen, polilaktik, poliglitolik, polilaktik koglitolik asit ve kitosan gibi polimerler sayılabilir (48).

Arter, ven ve kas dokuları gibi biyolojik yapılar da tüp amaçlı olarak kullanılabilenler, bunlar da sinir liflerinin rejenerasyonu ve matürasyonu için destek yapı sağlamaktadır. Ven duvarının yarı geçirgen yapısı ve içerdiği trofik faktörler rejenerasyon için uygun bir mikroçevre sağlamaktadır. Ancak çaplarının küçük olması nedeniyle lümenin kolapsi ve fibrotik kontraksiyona uğrayabilmesi gibi dezavantajları bildirilmiş, bu sebeplerle de ven greftlerinin sinir ve kas dokuları ile doldurularak daha iyi sonuçların alınması amaçlanmıştır. Arterler ise kalın duvar yapıları nedeniyle venlere göre kollabe olma riski düşüktür. Rejenerasyon aksonlara rehberlik etmesi, fibröz doku infiltrasyonunu azaltması ve salgıladığı nörotropik faktörler gibi avantajları bulunmakta ancak venlere göre daha uzun süre kalabildiği için inflamasyonu artırabileceği düşünülmektedir. Kas greftleri ise sinir dokusuna göre daha geniş bazal lamina tüpleri içermekte, hızlı damarlanma ve az miktarda

bağ doku infiltrasyonu göstermektedir. Bu sebeplerle periferik sinir rekonstrüksiyonları için kullanılmışlardır (49,50).

Sinir Transferleri

Fasiyal sinirin uzun ya da çoklu segment yaralanmalarında ve proksimal güdüğün anastomoza uygun olmadığı durumlarda yakındaki diğer motor nöronlar reinervasyon için kullanılırlar. Hipoglosal, spinal aksesuar sinir, trigeminal sinirin maseter ve servikal pleksusun motor dalı ile distal fasiyal dallara akson girişi sağlanabilir. Ekstratemporal fasiyal sinire olan yakınlığı, miyelinize motor liflerin yoğun olması, dil yarımındaki motor kaybın tolere edilebilir olması ve işlemin yüksek oranda iyi sonuç vermesi gibi sebeplerle hipoglosal sinir en sık kullanılanıdır (51,52).

Hipoglosal sinir transferi farklı tekniklerle uygulanabilir. Klasik işlem; hipoglosal sinirin ansa servikalis dalının distalinden tamamen kesilip, fasiyal sinirin ana trunkusu ile birleştirilmesidir. İşlemle yeterli fasiyal tonus ve hareket sağlanmakta ancak dilde gelişen hemiatrofi nedeniyle konuşma, çiğneme ve yutma zorlukları ayrıca sinkineziler görülebilmektedir. Şayet fasiyal sinir güdüğü ulaşılabilir durumda ise ya da güdükler arasında geniş boşluk varsa kesilmiş fasiyal sinirin distal güdüğü ile hipoglosal sinir uç-yan anastomoz yapılabilir. Gerimsiz tamir için araya sinir grefti de konulabilir. Bu teknikte dil atrofisi ve sinkinezi oranları daha düşük bulunmuştur (52-56). Yine fasiyal sinir mastoid segmentinden serbestleştirilip, inferiora taşınarak hipoglosal sinirle doğrudan anastomoz yapılabilir (57). Bu teknikler arasında komplikasyonları yüksek olmakla birlikte en iyi fonksiyonel sonuçların uç-uca anastomoz tekniği ile olduğu bildirilmiştir (58).

Trigeminal sinirin mandibular bölümünden çıkan maseter dalı da transferde kullanılmaktadır. Fasiyal sinire yakın seyri, donör bölge morbiditesinin düşük olması ve hızlı reinervasyon yeteneği gibi avantajları bulunmaktadır. Ayrıca genellikle bukkal gibi distal dallar ile anastomoz yapıldığından sinkinezi oranları düşüktür (59).

Gerek hipoglosal ve gerekse maseter sinir transferinde spontan duygu ifadesinin inşası mümkün olmaz. Bu amaçla geliştirilen bir teknik; karşı taraf fasiyal sinirin fonksiyonel bir dalı (bukkal) feda edilip, araya uzun bir sural sinir

grefti konur. Bu arada hipoglosal sinire parsiyel nörektomi ile uç-yan anastomoz yapılır. Amaç fasiyal sinire rejenere aksonlar sağlamak için geçici hipoglossal sinir transferi yapıp, karşı fasiyal sinir aksonlarının uzun grefti geçme aşamasında zaman kazanmaktır. Zira bu süre dokuz ayı bulabilmekte ve aksonların sadece yarısı distale ulaşabilmektedir. Bu sayede fasiyal kas gruplarında atrofinin önlenmesi amaçlanır. Bu yaklaşım, spontan duygu ifadeleri kazandırma yönünden avantajlı görünse de karşı tarafta güçsüzlük gibi olumsuzlukları barındırmaktadır (32, 41-44).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Denekler ve Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda 60 adet dişi, genç, 200 - 260 gram arasında *Rattus norvegicus* Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Tüm denekler 12 saat gece, 12 saat gündüz döngüsünde ve her kafeste dört denek olacak şekilde sınırsız yem ve su ile beslenmiştir. Deney öncesinde bütün deneklerin normal yürümeleri kontrol edilmiş, normal olmayanlar deney grubundan çıkarılmıştır. Tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna sunulmuş ve gerekli izinler alınmıştır (Protokol no: 2015.07.11, 10.10.2018 tarih ve 47 No'lu karar) (Ek-1).

Çalışmada kullanılan denekler Çizelge 3.1'de belirtildiği şekilde sınıflandırıldı ve gruplara randomize bir şekilde dağıtıldı. Bu kapsamda 60 denek hayvan kullanıldı ve denekler beş ana gruba ayrıldı:

Grup 1 (Kontrol grubu, n=12): Normal sağlıklı grup.

Grup 2 (Sham grubu, n=12) Bu grupta fasiyal sinire ulaşıp herhangi bir hasarlama yapılmadan cerrahi kesiler kapatıldı.

Grup 3 (Primer tamir grubu, n=12): Bu grupta fasiyal sinir kesilip, 10.0 dikiş materyali ile hemen tamir edildi.

Grup 4 (Aortik tüp grubu, n=12): Bu grupta fasiyal sinir kesilip, iki uç arasına başka bir denekten alınan abdominal aort parçası ile entübülasyon sağlandı.

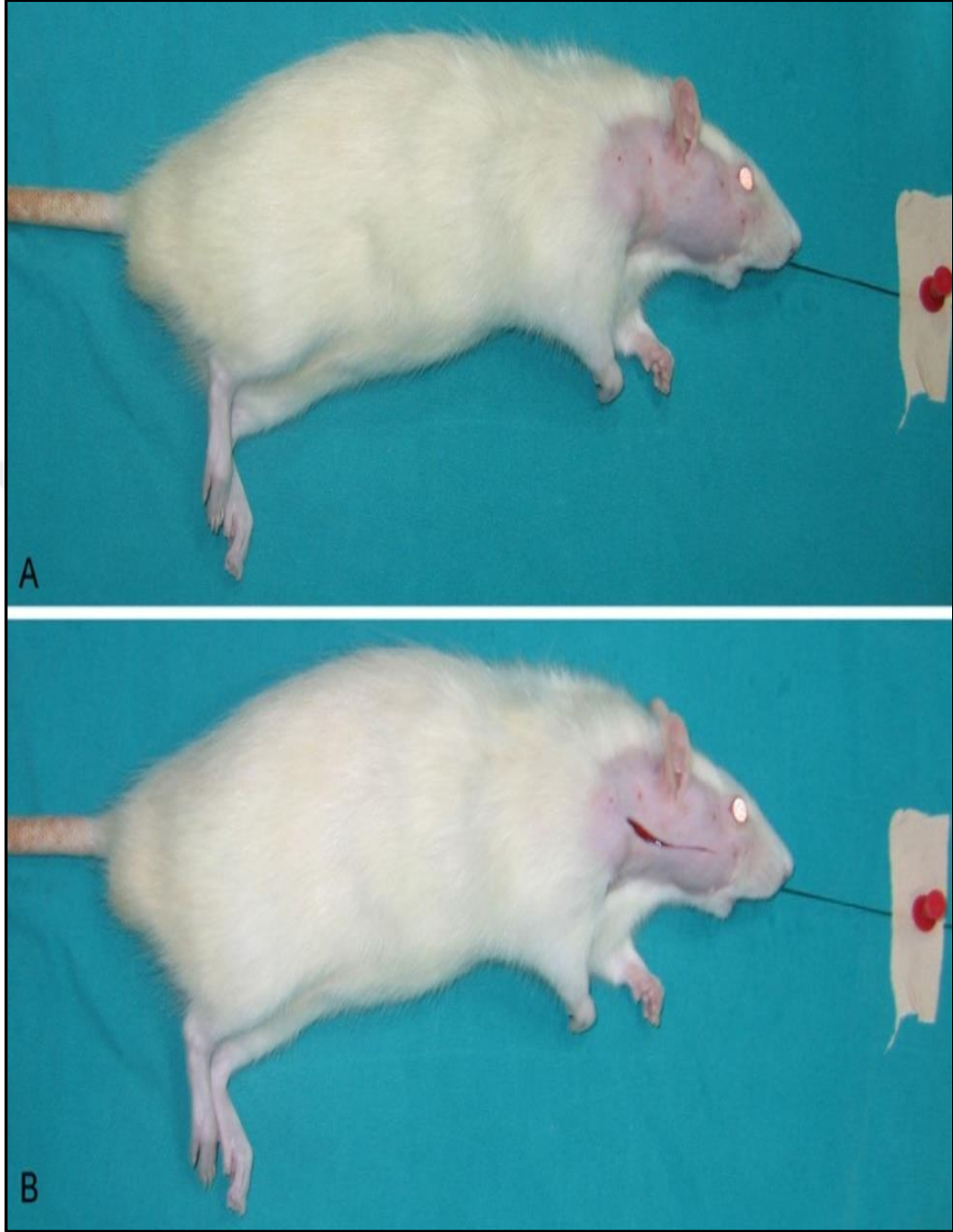
Grup 5 (Aortik tüp + platizma grubu, n=12): Bu grupta fasiyal sinir kesilip, iki uç arasında başka bir denekten alınan abdominal aorta parçası ile entübülasyon sağlandı. Ayrıca tüp içerisine platizma kasından alınan 3x5 mm boyutlarındaki parça yerleştirildi.

Çizelge 3.1. Denek grupları ve sayıları

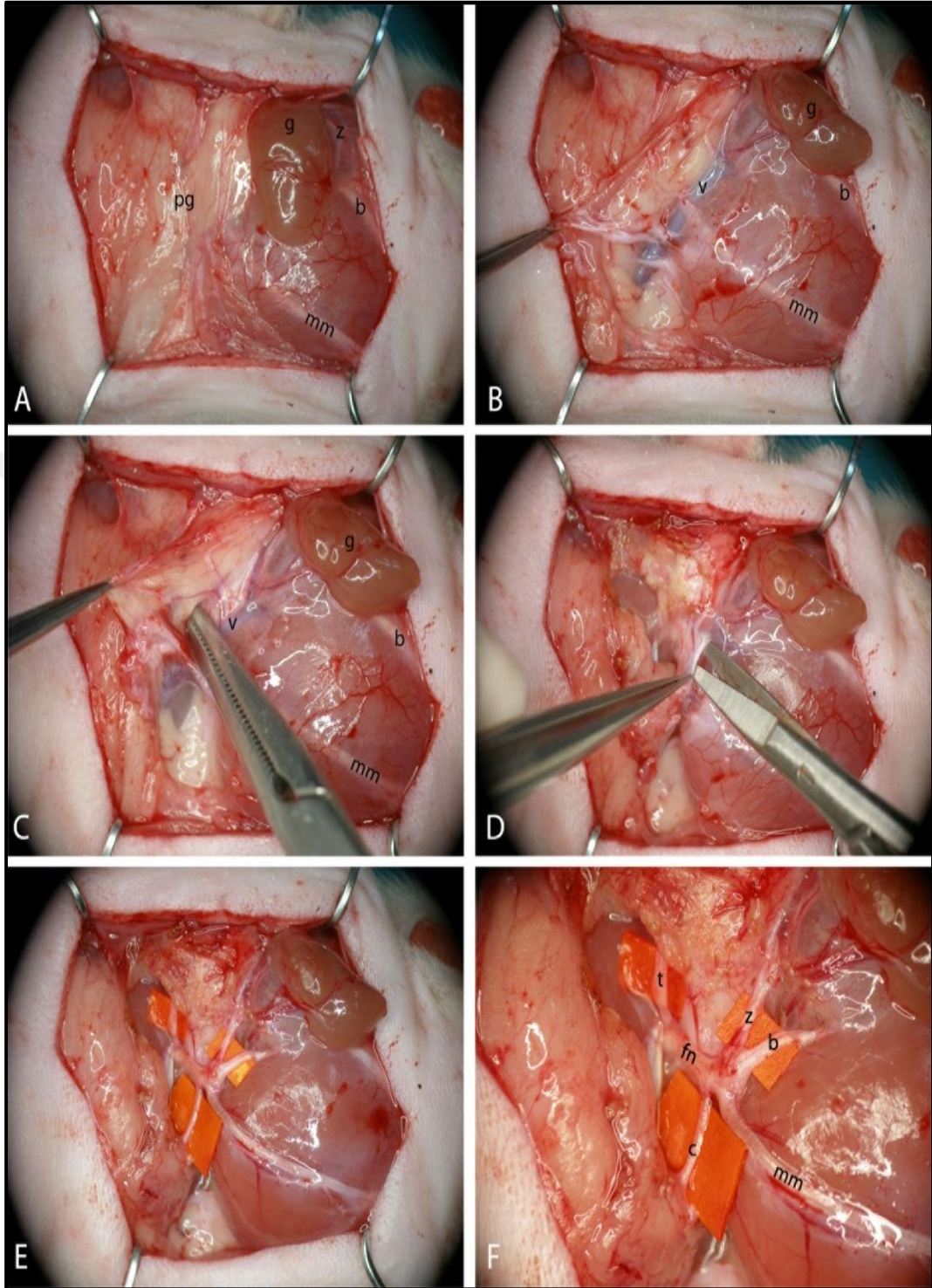
Grup Adı	Açıklama	Denek Sayısı
Grup 1	Grup 1: Kontrol	12
Grup 2	Grup 2: Sham	12
Grup 3	Grup 3: Fasiyal sinir kesisi ve primer koaptasyon	12
Grup 4	Grup 4: Fasiyal sinir kesisi+aortik tüp	12
Grup 5	Grup 5: Fasiyal sinir kesisi+aortik tüp+platizma	12

3.2. Cerrahi İşlem

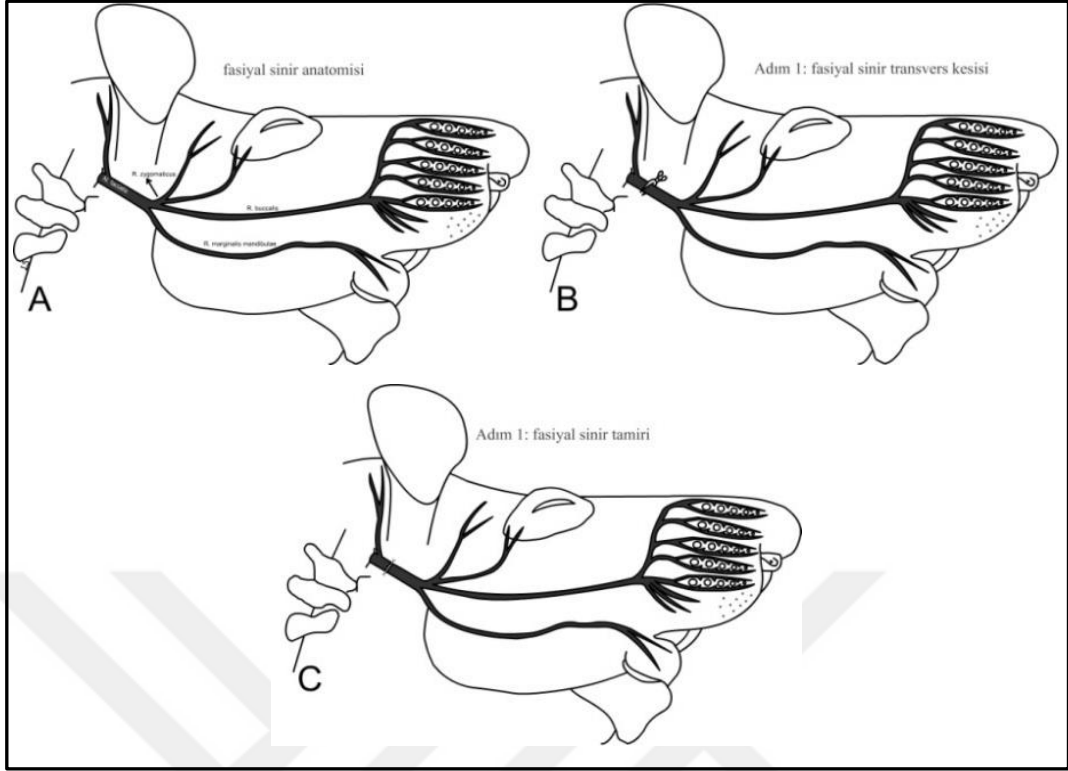
Fiberoptik aydınlatmalı operasyon mikroskobu (Olympus, SZ61) altında fasiyal sinirin dallarına ulaşıldı. Şekil 3.1’de cerrahi alan hazırlığı ve yapılan kesi, Şekil 3.2’de fasiyal sinir gövdesi ve ana dallarının diseksiyonu gösterilmiştir. Bu aşamada Grup 3-5 deneklerinde fasiyal sinir gövdesi orta seviyesinde transvers olarak kesildi. Sonrasında proksimal ve distal uçlar grup 3’te doğrudan, grup 4’de aortik tüp entübülasyonu ve grup 5’de de platizma kası destekli aortik entübülasyon yöntemiyle onarıldı (Şekil 3.3, Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Cerrahi işlem sonrasında kesi 4.0 dikiş materyali ile dikilerek kapatıldı ve denekler postoperatif bakım odasında iyileşmeye bırakıldı. Cerrahi işlemler sonrasında denekler standart kafeslerine alındıktan sonra uyanmalarına yakın bir zamanda tramadol (20 mg/kg) başlanıp, üç gün boyunca verilerek postoperatif analjezileri sağlandı.



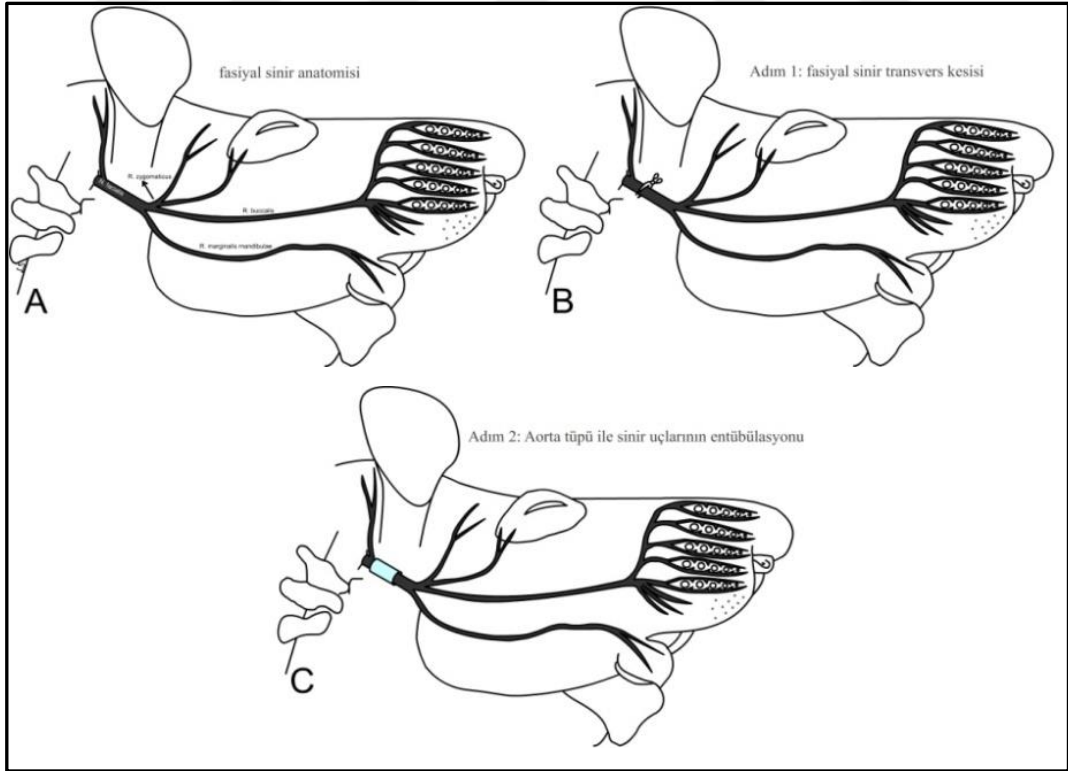
Şekil 3.1. Deney hayvanı üzerinde cerrahi alanın hazırlanması (A) ve yapılan cerrahi kesi (B).



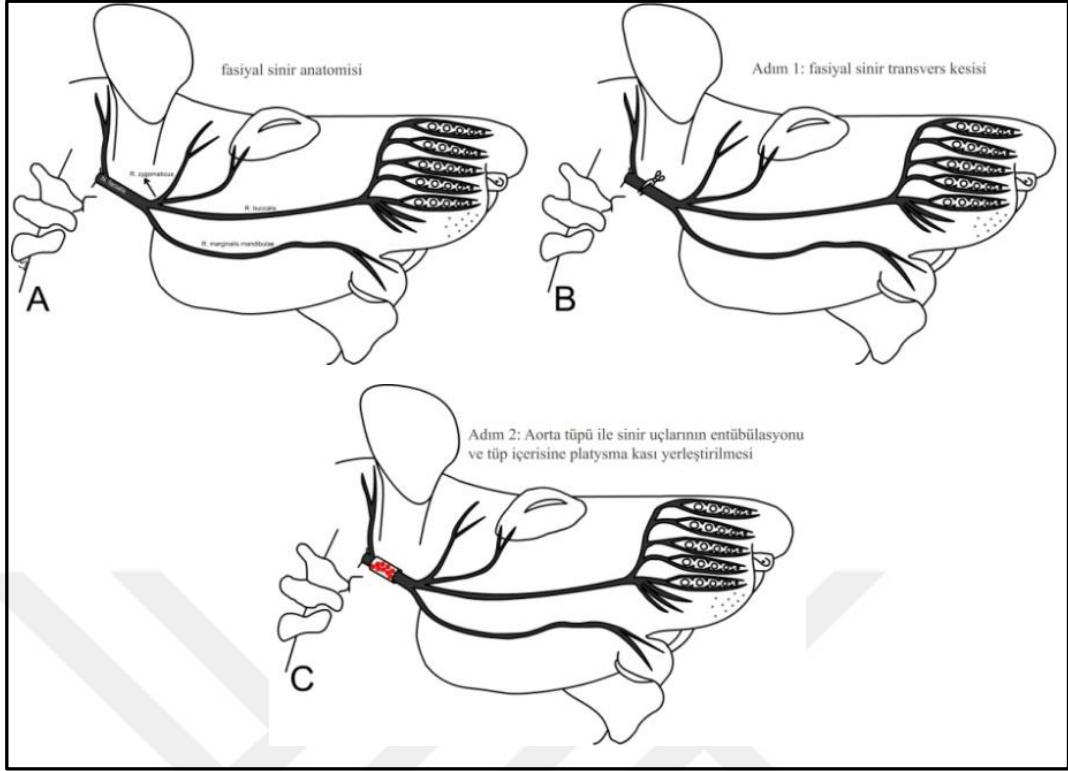
Şekil 3.2 (A-F). Fasiyal sinir gövdesi ve ana dallarının diseksiyonu. **b:** bukkal dal, **c:** servikal dal, **fn:** fasiyal sinirin ana gövdesi, **g:** glandula lakrimalis ekstraorbitalis, **mm:** marjinal mandibular dal, **pg:** parotis bezi, **t:** temporal dal, **v:** retromandibular ven, **z:** zigomatik dal



Şekil 3.3 (A-C). Fasiyal sinirin doğrudan tamiri



Şekil 3.4 (A-C). Fasiyal sinir uçlarının aorta tüpü ile entübülasyonu

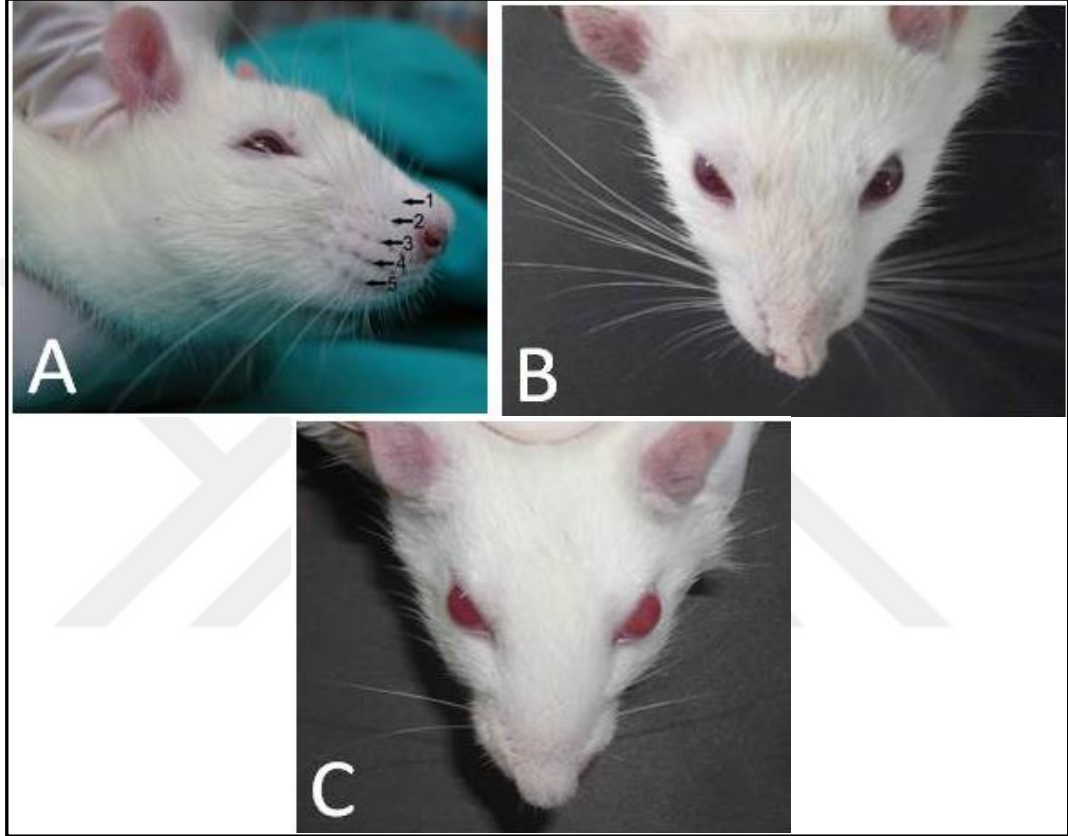


Şekil 3.5 (A-C). Fasiyal sinir uçlarının aorta tüpü ile entübülasyonu ve tüp içerisine platizma kası yerleştirilmesi

3.3. Değerlendirme Testleri

3.3.1. Vibriseal Motor Performansın Değerlendirilmesi

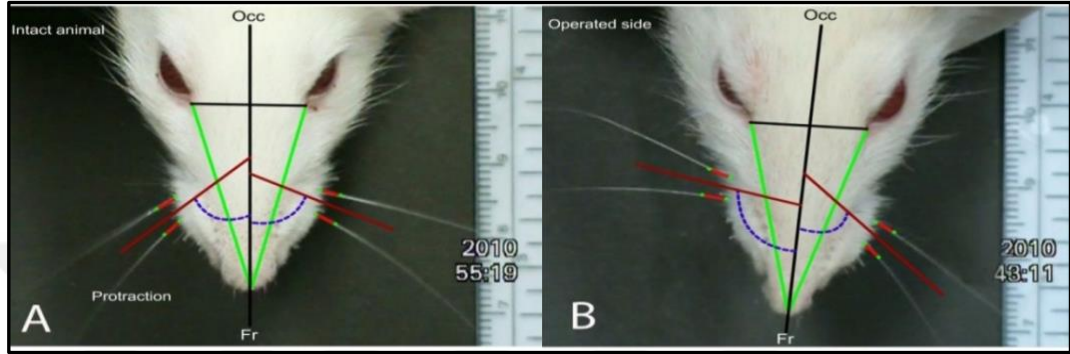
Hafif anestezi altında, deneğin vibriseal kıllarından en uzun ve kalını olan üçüncü sıranın en arkadaki iki kılı hariç diğer kıllar kesildi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Ratın vibriseal kılları. **A, B:** Beş sıra şeklinde vibriseal kıllarının dizilimi **C:** analiz amacıyla bu kıllardan üçüncü sıranın en arka kısmında bulunan ikisi sağlam bırakılarak diğerlerinin kesilmesi sonrası görünümü.

Analiz amacıyla, denek aktif eksplorasyon hareketi sırasında 3-5 dakika boyunca vibriseal kıl hareketleri video kamera ile kayıt edilmiştir. Her denekten elde edilen kayıttan denek başının hareketsiz olduğu 1.5 saniyelik diziler seçilerek biyometrik analiz ile incelendi. Deneğin burnunun ucu ve her iki gözünün iç köşesi referans noktası olarak kullanıldı. Her bir vibriseal kılın taban noktası ve gövdesi üzerinde tabandan 0.5 cm uzaktaki birer nokta bilgisayar ortamında belirlendi. Bu şekilde sağ ve sol taraf olmak üzere dört vibriseal kıla ait sekiz nokta yardımıyla biyometrik analiz gerçekleştirildi. Kayıt yapılan video görüntüleri daha önceki

projemiz kapsamında satın alınan video tabanlı görüntü analizi yazılımı yardımıyla her bir saniyelik bölümü 25 kareye (frame) bölündü. Protraksiyon ve retraksiyon hareketlerinin gerçekleştiği resim kareleri seçilerek üzerinde gerekli olan noktalar yerleştirildi (Şekil 3.7). Bıyık kıllarının protraksiyon ve retraksiyon açıları arasındaki fark amplitüd olarak hesaplandı.

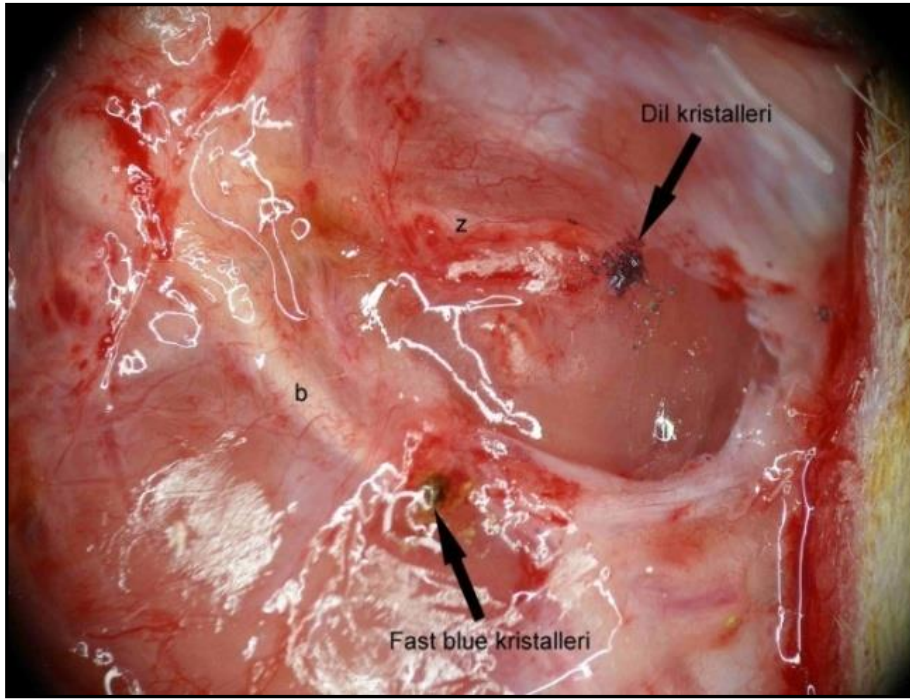


Şekil 3.7. Vibriseal motor performansın biyometrik analizi

3.3.2. Kolateral Aksonal Dallanmanın Değerlendirilmesi

Floresan İşaretleyicinin Uygulanması

Sinir onarımı sonrası sinirin iyileşmesi için verilecek iki aylık süre sonunda fasiyal sinir eksplere edilip, bukkal dalı Fast Blue (FB), zigomatik dalı ise dialkil karbosiyanin (DiI) kristalleri ile kaplandı (Şekil 3.8). Kristaller dokuda 30 dakika tutuldu, sonrasında yıkanıp, kurutularak kesi kapatıldı.

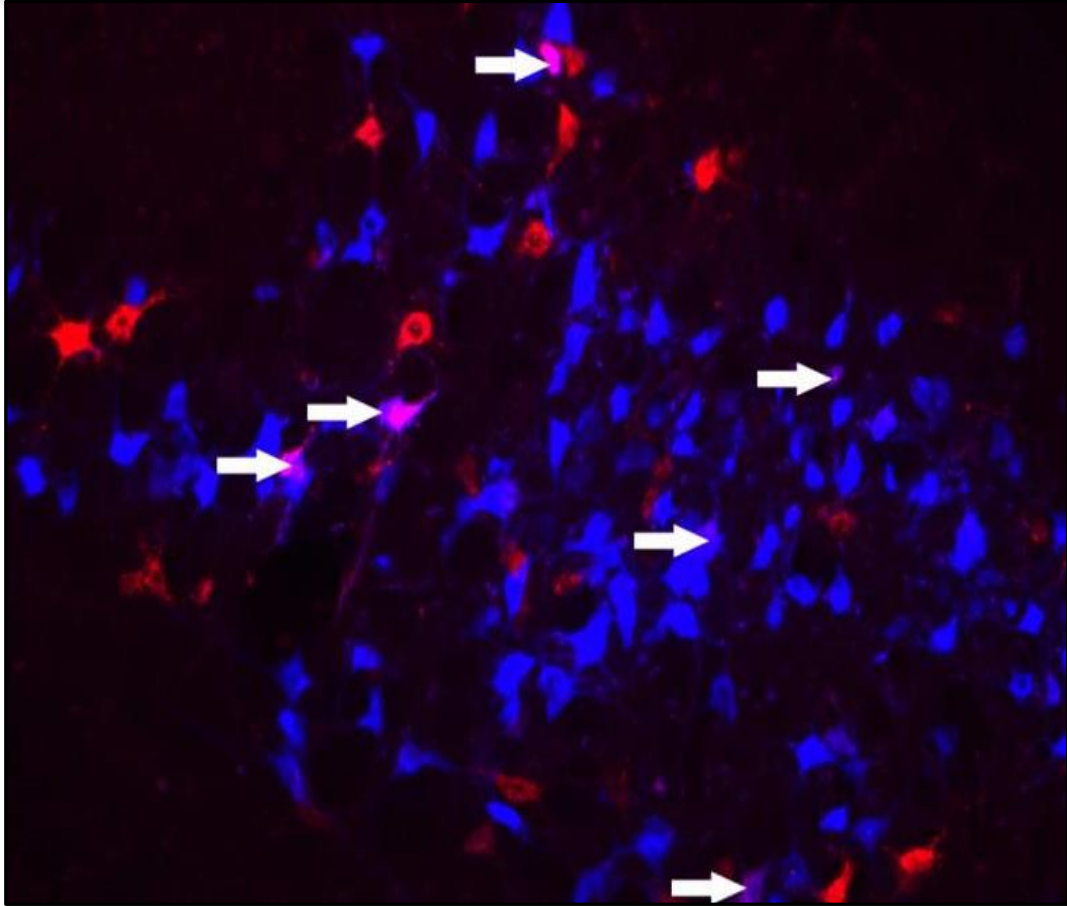


Şekil 3.8. Fasiyal sinir çekirdeğindeki nöronların görüntülenmesi amacıyla floresan işaretleyicilerin uygulanması. Kırmızı renkte görünen dialkil karbosiyanin (DiI) kristalleri zigomatik dalın, sarı renkte görünen Fast Blue (FB) kristalleri ise bukkal dalın kesik ucunu kaplayacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu işaretleyicinin kristallerinin sarı renkte olmasına karşın nöronlarda mavi floresan ışık vermesinden dolayı Fastblue ismi verilmiştir. FB boyası hidrofilik özellikte olduğu için sinirin üzerinde bir damla şeklinde bir görünüm oluşturmaktadır. **b:** bukkal dal, **z:** zygomatik dal. **Not:** Fotoğraf, daha önceki projelerimizden elde edilmiştir.

Floresan kristallerin uygulanmasından yedi gün sonra denekler, pH:7.4 olan 0.1 M fosfat tamponu içerisindeki %4'lük formaldehitte transkardiyak olarak perfüze edildi. Daha sonra beyin sapı dikkatli bir şekilde çıkarıldı.

Floresan Mikroskopi

Beyin sapı örneklerinin vibrotomla 50 µm'lik frontal kesitleri alındı ve kesitler cam slaytlara alınarak oda sıcaklığında kurutuldu. Kesitler, işaretçilerin floresan yansımalarının karışmasını engellemek için özel yapım filtre seti kullanılarak floresan mikroskobunda incelendi. Retrograd taşınma ile işaretlenmiş fasiyal motor nöronların görüntüleri görüntü değerlendirme yazılımıyla oluşturulup, birleştirildi (Şekil 3.9). Bu teknik, FB ile boyanan bütün hücrelerin elle sayımı ve tanımlanmasına olanak sağladı. Fasiyal sinirin lateral subnükleusundan alınacak olan her üçüncü kesitte, rejenere olan aksonun projekte olduğu bukkal sinir nöronlarının toplam motor nöron sayısının saptanmasında optik inceleme yöntemi kullanıldı.



Şekil 3.9. Fasiyal sinir çekirdeğindeki nöronların sinir rejenerasyonu sonrası görünümü. Mavi olarak görünen FB ile işaretlenmiş ve bukkal dala ait, kırmızı olarak görünen DiI ile işaretlenmiş ve zigomatik dala ait, mor olarak görünen ve ok ile belirtilenler ise ikili işaretlenmiş (double-labelled), kolateral filizlenme ile zigomatik ve bukkal dalın her ikisine birden yani yanlış bir hedefe yönelmiş olan nöronlardır. **Not:** Fotoğraf, daha önceki projelerimizden elde edilmiştir.

3.3.3. Hedef Kas Reinervasyon Paterninin Analizi

Video analizden bir gün sonra bir grupta altı rat hedef kasın reinervasyonunu ortaya koymak için muhafaza edildi. Perfüzyon ve fiksasyonu takiben bukkal dal tarafından inerve edilen bir ekstrinsik vibriseal kas olan sağ levator labii superior (LLS) kası diseke edilip, serbestleştirildi. Ardından paraformaldehit ile fiksasyon sonrası %20 sükröz ve fosfatla tamponlanmış solüsyon (PBS) içinde dondurularak korundu. Longitudinal kesitler alındı ve lameller üzerine serildi. Kastan alınan kesitlerin sayısı 32-37 arasında idi ve dokular immün boyama yapılana kadar -80°C'de depolandı. Her üçüncü kesit sonrası kesitler yıkandı ve kurutuldu. %0,2 triton x-100, %0,02 sodyum azide ve %5 normal koyun serumu içeren PBS kullanılarak nonspesifik bağlanma bloke edildi. Kesitler %0,5 lambda-carrageenan ve %0,02 sodium azide içeren 1/2000 PBS içinde dilüe edilip, nöronal class 3 beta-tubuline karşı poliklonal primer antikorlar ile inkübe edildi. Tüm kesitler aynı solüsyon ile boyandı ve boyama kuvvetlerinde muhafaza edildi. Bir gün sonra oda sıcaklığında PBS içinde durulanıp, sekonder antikorlar (Cy3-conjugated sheep anti-rabbit IgG) ile inkübe edildi. Daha sonra kesitler tekrar durulanıp, alexa flour 488 ile konjuge edilmiş alfa-bungaro toksin ile inkübe edildi. Tekrar durulanıp, kurutuldu ve floresan mikroskop altında incelendi. Motor son plak reinervasyon kalitesi; beta-tubulin boyanmasının tanımlanması ile aksonal dallanma sayısı, alfa-bungaro toksin boyanmasının tanımlanması (asetilkolin reseptör boyanması) ile kendi son plak sınırlarını terk eden akson sayısı belirlendi. Bu kriterlere göre kasın monoinervasyon, poliinervasyon ya da denervasyonu (reseptör boyanması ile görünen akson olmaması) ortaya konuldu.

3.4. Veri Analizi

Her bir grup için elde edilecek olan veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık Student t ve ANOVA Tukey testi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel analizler için SPSS (versiyon 11.0) programı kullanıldı ve tüm testler için anlamlılık düzeyi 0.05 olarak belirlendi.

4. BULGULAR

Deney gruplarında kolateral aksonal dallanma derecesi verileri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Grup 1 ve 2’de fasiyal sinir salim olduğundan kolateral aksonal dallanma görülmedi. Grup 3 ve 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmezken (ANOVA Tukey’s test, $p<0.05$), grup 5’te grup 4’e göre kolateral aksonal dallanma derecesinin anlamlı olarak daha düşük olduğu tespit edildi (ANOVA Tukey’s test, $p<0.05$). Kullandığımız cerrahi teknikte çift işaretli perikarya miktarı etkili bir şekilde düşüş göstermiş, bu da aksonal kolateral dallanmanın önemli bir şekilde azaldığını kanıtlamıştır.

Çizelge 4.1. Deney gruplarında kolateral aksonal dallanma

Deney Grupları	FR	FB	FR+FB	FR+FB (%)
Grup 1	451 ± 31	1438 ± 65	0	0
Grup 2	538 ± 42	1571 ± 59	0	0
Grup 3	765±72	1410±143	306±39	14.06
Grup 4	635±211	1389±251	206±62	10.17
Grup 5	742±302	1462±405	125±43	5.67*

FR; sadece zigomatik dala, **FB**; sadece bukkal dala, **FR+FB**; zigomatik ve bukkal dala projekte olan nöronları, **FR+FB (%)**; kolateral aksonal dallanma derecesini göstermekte

Deney gruplarında LLS kasına ait motor son plakların reinervasyon paternleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Grup 1 ve 2’de motor son plakların tek akson tarafından inerve edildiği ve monoinervasyon paterni gösterdiği görülmektedir. Bütün gruplara ait poliinerve nöromusküler kavşak (NMK) yüzdeleri karşılaştırıldığında; oranın grup 5’te, grup 4’e göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (ANOVA Tukey's test, $p<0.05$). Grup 3 ve grup 4 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Çizelge 4.2. Motor son plakların reinervasyon paterni

Deney Grupları	Levator Labii Süperior (LLS) Kası		
	Monoinerve NMK Oranı (%)	Poliinerve NMK Oranı (%)	Denerve NMK Oranı (%)
Grup 1	100	0	0
Grup 2	100	0	0
Grup 3	75.7±6.3	23.1±7.1	1.2±0.3
Grup 4	67.3±9.4	30,9±10.2	1.8±0.8
Grup 5	87.1±2.4	12.9±3.1*	0

NMK: Nöromusküler kavşak

Deney gruplarında video tabanlı görüntü analizi ile vibriseal kıllara ait retraksiyon ve protraksiyon hareketi sırasında kılların açısal değişimlerine (amplitüd) ait veriler Çizelge 4.3'te verilmiştir. Salim grupta ortalama amplitüd 60 derece ölçüldü. Amplitüd değerleri açısından grup 1 ve 2 arasında anlamlı fark bulunmazken, grup 1 ve grup 2'de elde edilen değerler grup 4 ve 5'e göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Yine Grup 5'te grup 4'e göre amplitüd değerleri anlamlı derecede yüksekti (ANOVA Tukey's test, $p<0.05$). Grup 3 ve grup 5 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Çizelge 4.3. Vibriseal motor performansın biyometrik analizi

Deney Grupları	Amplitüd Dereceleri
Grup 1	61,4±13.3
Grup 2	63,2±6,3
Grup 3	24,3±5,2
Grup 4	16,3±10,2*
Grup 5	25,8±10,3

5. TARTIŞMA

Periferik fasiyal paralizi günümüzde sıkça karşılaşılan bir durumdur. Fasiyal sinir, travmalar dışında parotis, petröz kemik ve serebellopontin köşe cerrahisi sonrası yatrogenik olarak hasarlanabilmektedir. Fasiyal sinirin konuşma, çiğneme, yutma ve göz kapama dışında emosyonel durum değişiklikleri sonucu mimikleri oluşturma işlevleri söz konusudur. Bu sebeple, fasiyal sinir yaralanmaları sonrasında gelişen fonksiyonel ve kozmetik sorunlar ciddi ruhsal sıkıntıları da beraberinde getirmektedir. Bununla birlikte, emosyonel durumun ifadesinde 42 adet yüz kasının istemli ve uyum halinde çalışmasının gerekliliği düşünüldüğünde, sinir onarım tekniklerindeki gelişmelere rağmen halen tatminkâr sonuçlara da ulaşılmış değildir (53-64).

Periferik sinir yaralanması sonrası dejenerasyon ve rejenerasyon aşamaları karmaşık bir patofizyolojik süreci içermektedir. Periferik sinir sisteminde aksonlar, canlı kalabilmek için ana hücre gövdesinden aksoplazmik akıma ihtiyaç duyarlar. Yaralanma sonrasında yaralanan bölgenin distalindeki akson bölümünde Wallerian dejenerasyon gelişir. Bu süreçte aktive olan Schwann hücreleri ve makrofajlar, distaldeki nöron ve myelin debrislerin temizlenmesini sağlar. Ayrıca Schwann hücreleri, yaralanma bölgesinde oluşturduğu iskele ile rejenere aksonlar için rehberlik sağlar. Yine salgıladığı pekçok nörotrofik ve nörotropik faktörle rejenerasyon sürecine katkıda bulunur. Rejenerasyon sürecinde proksimal ucun büyümesi ile yeniden sinaptik birleşmeler sağlanır (65-67).

Periferik sinir yaralanması sonrası rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşmeyi engelleyen birçok faktör mevcuttur. Bunlardan birisi dengesiz kolateral dallanma ve periferik hedef ile aksonal bağlantıdaki yetersizliktir. Bu durum, hasarlı aksonların kolateral dallanmaları ve bu dalların gelişigüzel halde farklı sinir fasikülleri boyunca büyümelerinden kaynaklanmaktadır. Bu da rejenere aksonların yanlış yolu izleyerek yanlış hedefe doğru yönlenmesine neden olur (68,69). Motor aksonların kasları gelişigüzel inervasyonunu ile kasın miyotopik organizasyonu bozulmaktadır (70). Başka bir neden ise kalıcı kas içi filizlenmedir. Ek dalların varlığı birçok kas lifinde yanlış reinervasyona neden olur. Bir kas lifinin fonksiyonel olarak farklı, asenkronize iki veya daha fazla motor nöron tarafından

kontrolü yeni oluşmuş daha büyük bir motor ünite ile yani poliinervasyonla sonuçlanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar nöromusküler bileşkedeki poliinervasyon üzerine odaklanmıştır. Kolateral aksonal dallanmanın azaltılması ve binlerce aksonun doğru kas liflerine yönlendirilmesi oldukça zor bir süreçtir. Modern mikrocerrahi tekniklere rağmen ortaya çıkan anormal reinervasyon sonucu istenmeyen anormal hareketler ve refleks değişiklikleri ortaya çıkmaktadır (71).

Fasiyal sinir onarımında yaralanmanın tipine göre farklı teknikler uygulanmaktadır. Bu teknikler arasında en iyi sonuçlar primer nörorafi ile alınmıştır (41,42). İlk başarılı doğrudan onarım 1920'lerin sonunda Bunnell tarafından yapılmış ve günümüzde halen altın standart cerrahi teknik olarak öne çıkmaktadır (72). Yaralanan fasiyal sinirin mobilize edilmesi proksimal ve distal güdüklerin gerilme olmaksızın doğrudan uç uca anastomozunu mümkün kılabilir. Ancak segmental defektin büyük olduğu ve uç uca birleştirmenin yapılamadığı durumda greftle onarıma ihtiyaç duyulabilir. Bu açıdan en üstün yöntem otojen sinir greftlerinin kullanımıdır. Proksimal ve distal güdüklerin gergin olarak karşı karşıya gelmesi durumunda otojen greftle onarımın primer onarıma göre klinik sonuçlarının daha iyi olduğu gösterilmiştir (73,74). Sinir grefti, rejenere olan aksonlar için ideal bir tüp ve iskele görevi görür. Ayrıca Schwann hücreleri içeren bazal laminası ve salgılanan büyüme faktörleri sayesinde rejenerasyon için çok elverişli bir ortam sağlamaktadır (75). Aksoplazmik akımın aynı doğrultuda devam etmesi adına greftin proksimal ve distal uçlarının defekte uygun şekilde konulması önerilse de pekçok çalışmada ters kutupta konulsa dahi rejenerasyonu olumsuz etkilemediği gösterilmiştir (45,76). Graft amaçlı kullanılan sinirin duyu ya da motor sinir oluşunun rejenerasyona etkisi incelendiğinde motor sinirde rejenerasyonun motor sinir grefti ile yapılan onarımda daha yüksek olduğu vurgulanmıştır (77). Kullanılan sütür tekniklerine bakıldığında fasiküler tamirin daha kesin anatomik reinervasyon sağlayabileceği düşünülse de teknik açıdan daha kolay olması, sinirin internal beslenmesinin bozulmasını en aza indirmesi nedeniyle epinöral onarım tercih edilmektedir (78-80).

Sinir uçlarının sütürler ile birleştirilmesine alternatif olarak fibrin doku yapıştırıcısı, akrilat, lazer kaynak, biyolojik olarak ayrışabilen cam kumaş gibi yöntemler denenmiş, yapılan çalışmalarda geleneksel nörorafiye benzer sonuçlar ortaya konmuştur. Sütürle onarımın zaman olması, sinir uçlarının travmatik manipölasyonu gibi faktörler bu yöntemleri avantajlı kılsa da kullanılan materyallerin oluşturabilecekleri inflamasyon, fibrozis, düşük gerilim direnci gibi olumsuzlukları da vurgulanmaktadır (36-39, 81-84).

Fasiyal sinirin uzun ya da çoklu segment yaralanmalarında ve proksimal güdüğün anastomoza uygun olmadığı durumlarda yakındaki diğer motor nöronlar reinervasyon için kullanılırlar. İlk kez 1895 yılında Dr. Balance, otitis media nedeniyle fasiyal paralizi gelişen bir çocukta rekonstrüksiyon amaçlı spinal aksesuar siniri kullanmıştır. 1901 yılında Körte ve Bernhardt, petroz kemikte enfeksiyon sonucu fasiyal paralizi gelişen olguda ilk kez hipoglosal sinire ara greft kullanarak onarım yapmışlardır (53,85). Günümüzde hipoglosal sinir transferi ve karşı fasiyal sinir greftlemesi ile onarım yapılan olgularda hem istemli hareketlerin hem de duygusal mimiklerin sağlanabildiği vurgulanmaktadır (86-88).

Otolog sinir greftleme tekniğinde kullanılabilecek greft uzunluğunun sınırlı olması ve donör bölge komplikasyonları gibi nedenlerle alternatif arayışlara gidilmiştir. Kadavra kaynaklı alogreftlerde immün reaksiyon gibi sıkıntılar ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple, aselüler hale getirilmiş, ekstraselüler matriksi (ESM) temizlenmiş ve bu sayede immünojenitesi ortadan kaldırılmış alogreftler üretilmiştir (46,47). Bunun dışında farklı biyomateriyaller içeren sinir tüpleri de kullanılmıştır. Sinir tüplerinin yapımında biyolojik olarak ayrışabilir farklı dokular, doğal ve sentetik polimerler ya da hibrid yapılar kullanılmış, bunların birbirleriyle ve otolog sinir greftleriyle karşılaştırmalı çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca bu tüpler, doğal ESM ya da nanoteknoloji kullanılarak üretilen yapay matriksler, kolajen, kök hücreler ve büyüme faktörleri ile kaplanarak etkileri artırılmaya çalışılmıştır. ESM tüm dokularda bulunan hücresel bir içerik olup, proteoglikan ve kolajen, laminin, elastin, fibronektin gibi fibröz proteinleri içerir. ESM'den modifiye edilmiş iskele kullanılması sinir rejenerasyonunu hızlandıran bir yaklaşımdır.

Matsumize ve ark., kolajenle kaplı hibrid yapay sinir tüpünü yağ dokusu kaynaklı stromal vasküler fraksiyon ile doldurarak sinir rekonstrüksiyonunda kullanmışlar, sonuçta sadece kolajen ile kaplı tüplere göre stromal vasküler fraksiyon içeren grupta rejenerasyonun daha hızlı ve daha kaliteli olduğunu bildirmişlerdir (89). Hajime ve ark., rat fasiyal sinir rejenerasyon modelinde otogreft, kolajenle kaplı silikon tüp ve kolajenle kaplı polilaktik asit (PLA) tüpü ile onarımın sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Miyelinli lif sayısı, akson çapları ve miyelin kalınlığı açısından otogreft ve PLA grubu, silikon gruba göre üstün bulunmuştur (90). Kitahara ve Suzuki, kedi fasiyal sinir rejenerasyon modelinde otogreft ve kolajen sinir tüpleri ile onarımın sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Otogreft grubunda elektrofizyolojik parametreler daha iyi bulunurken, histolojik incelemelerde morfolojik ve yapısal olarak iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır (91). Yosuke ve ark., rat fasiyal sinir rejenerasyon modelinde otogreft ve kolajenle doldurulmuş poliglikolik asit (PGA) ile onarımın sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Otogreft grubunda epinöryum benzeri rejenere dokunun yüzeyel tabakasında damarsal yapıların çok daha yoğun geliştiği, miyelinize lif sayısının daha fazla olduğu ve rejenere aksonların çok daha kalın myelin kılıfı sahip olduğu bildirilmiştir (92).

Kullanılan biyomateryalde iskele yapısının elastisitesi, geometrisi ve topolojisi de sinir rejenerasyonunda önemli rol oynamaktadır. Yüzeyi özel olarak hizalanmış ve yivli topolojiler içeren iskelelerin daha fazla genişleme ve uzama gösterdiği, bunun da rejenerasyon üzerine olumlu katkısı olduğu bildirilmiştir (93,94).

Sinir rejenerasyonunda büyüme faktörleri de önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan çalışmalarda büyüme faktörlerinin rejenerasyonun belirli dönemlerinde artış gösterip, farklı hücrelerin göçü, çoğalması ve canlı kalmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (95). Ancak bu faktörler fizyolojik koşullar altında stabil olmayıp, uzun süre etkinlik gösterememekte, bu da yüksek doz ya da ilave uygulamaları gerektirmektedir. Bu durum hem maliyet hem de enfeksiyon riskini artırmaktadır. Bu açıdan yeterli konsantrasyonu sağlamak ve etki sürelerini uzatmak için faktörlerin sinir tüpleri ile birlikte kullanımı önerilmiştir. Böylelikle sürekli salınımları sağlanarak, rejenerasyonun uzun süre desteklenmesi

amaçlanmıştır. Glial hücre kaynaklı nörotropik faktörlerin rejenerasyona etkilerinin araştırıldığı bir rat modelinde kolajen tüple birlikte büyüme faktörünün kontrollü salınımının sağlandığı grupta histolojik parametreler ve fonksiyonel sonuçların daha üstün olduğu bildirilmiştir (96). Başka bir rat modelinde, pek çok büyüme faktörünü içeren insan kordon serumlu sinir tüpü ile yapılan onarımda anjiogenez, proliferasyon ve miyelinizasyona dair sonuçlar otograft grubu ile benzer, serum içermeyen gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (97).

Sinir tüplerinde rejenerasyonu arttırmak için diğer bir yöntem de kök hücrelerin kullanılmasıdır. Bunlar pluripotent (embriyonik kök hücreler) ve multipotent (mezenkimal, kemik iliği, yağ doku, deri kaynaklı, sinir kök hücreleri) kök hücrelerdir. Kök hücre tedavisi hem antiinflamatuvar etkisi ile doğal sinir rejenerasyonunu indüklemekte, hem de büyüme faktörlerinin salınımını artırarak Schwann hücrelerinin ve motor nöronların gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu hücreler, nöronlar, Schwann hücreleri, glial, düz kas, yağ hücrelerine farklılaşabilmekte ancak akıbetinin öngörülemez olması ve tümör gelişimi riskleri bu yöntemi sınırlayan faktörler arasında sayılmaktadır (98). Kemik iliği, yağ ve deri kaynaklı kök hücreleri kolay elde edilebilirken, nöral kök hücreler embriyonik olarak ya da erişkin memeli beyninden izole edilebilirler ve bu da klinikte kullanımlarını zorlaştırmaktadır. Bir rat peroneal sinir modelinde, kullanılan ven greftine ilave edilen vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve kemik iliği kökenli andiferansiye kök hücrelerin etkileri araştırılmış, VEGF grubunun sonuçları otograft grubu ile benzer ve kök hücre grubuna göre üstün bulunmuştur (98). Bir rat fasiyal sinir modelinde, defektif alana olfaktor kök hücrelerin emdirildiği hidrojel uygulanan ve bunun rejenerasyona olumlu katkıları olabileceği ifade edilmiştir. Olfaktor kök hücrelerin kolay elde edilebilmeleri, farklı hücrelere farklılaşabilmeleri ve pek çok büyüme faktörü salgılayabilmeleri gibi olumlu etkileri ifade edilmiş, hidrojel ile kaplanarak da etki sürelerinin uzatılabilmesi hedeflenmiştir (99). Bir rat siyatik sinir modelinde, yağ doku, kemik iliği kaynaklı ve otolog Schwann hücreleri ile doldurulmuş fibrin sinir tüpü ile onarımın sonuçları karşılaştırılmış, yağ doku kaynaklı ve otolog Schwann hücre grubunda benzer, kemik iliği kaynaklı Schwann hücre grubunda ise buna göre bulguların daha kötü olduğu bildirilmiştir. Bu veriler tüm kök hücre kaynaklarının

aynı etkiyi göstermediğine işaret etmektedir (100). Kök hücrelerden motor nöronların elde edilerek tedavi amaçlı uygulanması da başka bir yaklaşımdır. Due ve ark., IPSC (indüklenmiş pluripotent kök hücre) ve ESC'lerin (embriyonik kök hücre) 12 gün içerisinde saf motor nöron progenitörlerine, 28. günde de bunların %90'ının fonksiyonel olarak matür motor nöronlara farklılaşabildiğini göstermişlerdir (101). Bryson ve ark., fare siyatik sinir modelinde ESC kaynaklı motor nöronların implantasyonu sonrası NMK oluşumunu gözlemlemişlerdir (102). Yine bir fare tibial sinir modelinde IPSC kaynaklı motor nöronların denerve kası %70'ine kadar restore edebildiği ortaya konulmuştur (103).

Arter, ven ve kas dokuları gibi biyolojik yapılar da tüp amaçlı olarak kullanılabilmekte, bunlar da sinir liflerinin rejenerasyonu ve matürasyonu için destek yapı sağlamaktadır. Ven duvarının yarı geçirgen yapısı ve içerdiği trofik faktörler rejenerasyon için uygun bir mikroçevre sağlamaktadır. Ancak çaplarının küçük olması nedeniyle lümenin kolapsi ve fibrotik kontraksiyona uğrayabilmesi gibi dezavantajları bildirilmiş, bu sebeplerle de ven greftlerinin sinir ve kas dokuları ile doldurularak daha iyi sonuçların alınması amaçlanmıştır. Arterler ise kalın duvar yapıları nedeniyle venlere göre kollabe olma riski düşüktür. Rejenere aksonlara rehberlik etmesi, fibröz doku infiltrasyonunu azaltması ve salgıladığı nörotropik faktörler gibi avantajları bulunmakta ancak venlere göre daha uzun süre kalabildiği için inflamasyonu artırabileceği düşünülmektedir. Kas greftleri ise sinir dokusuna göre daha geniş bazal lamina tüpleri içermekte, hızlı damarlanma ve az miktarda bağ doku infiltrasyonu göstermektedir. Bu sebeplerle periferik sinir rekonstrüksiyonları için kullanılmışlardır (49,50).

Bir rat siyatik sinir modelinde sadece ven grefti, parçalanmış sinir partikülleriyle doldurulmuş ven grefti ve otojen sinir grefti ile onarımın sonuçları karşılaştırılmıştır. Buna göre; otojen sinir ile sinir partikülleri ile doldurulmuş ven greftinin sonuçları benzer ve sadece ven grefti kullanılan gruba göre üstün bulunmuştur. Bu çalışmada ven greftinin mikroçevresi ve sinir partiküllerinin içerdiği nörotropik faktörlerin rejenerasyon sürecine katkılarına işaret edilmiştir (104). Benzer bir çalışmada da yine sinir partikülleriyle doldurulmuş ven grefti ile yapılan onarımda fonksiyonel, elektrofizyolojik ve histolojik parametreler açısından otojen sinir grefti ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (105). Yine diğer

bir araştırmada ratlarda oluşturulan fasiyal sinir defekti çizgili kas parçaları ile doldurulan ven grefti ile tamir edilmiş ve bunun sonuçları boş ven grefti ve primer suture edilen gruplar ile karşılaştırılmıştır. Poliinervasyon açasından bakıldığında kas ile doldurulan ven grefti kullanılan grupta diğerk iki grupla karşılaştırıldığında en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Motor performans açasından değerlendirildiğinde yine en iyi sonuçlar bu grupta elde edilmiş fakat amplitüd değerleri salim grubun çok altında kalmıştır (106). Bazı araştırmacılar ven içindeki kapakçıkların periferik sinirin uzamasını engelleyebileceğine işaret etmişler, bu sebeple ters yüz edilmiş ven greftlerinin kullanımını önermişlerdir. Bir tavşan fasiyal sinir modelinde standart ve ters yüz edilmiş ven grefti ile yapılan onarımın sonuçları karşılaştırılmış, sonuçlar benzer bulunmuştur (107). Bir rat siyatik sinir modelinde ters yüz edilmiş ven ve arter ile yapılan onarımda benzer morfometrik sonuçlar elde edilmiş ancak ven grubunda normal sinir organizasyonuna daha yakın bulgular gözlenmiştir. Çalışmada, arter duvarının daha kalın olması nedeniyle greftin daha uzun süre kalmasının inflamasyona neden olabileceği ayrıca arter lümenindeki daha geniş temas yüzeyinin rejenerasyonu olumsuz etkileyebileceği öne sürölmüştür (50). Bir rat siyatik sinir modelinde adduktor kas grefti ve otojen sinir grefti ile onarımın sonuçları benzer bulunmuştur (108). Yine bir rat siyatik sinir modelinde aselöler kas ve sinir grefti ile yapılan onarımda rejenere aksonların sayısı ve matürasyonu bakımından benzer bulgular gözlenmiştir (109). Battiston ve ark., 20 hastadaki 21 periferik sinir lezyonunda kas dokusu ile doldurulmuş ven grefti ile onarımda uzun süreli takipte farklı derecelerde duyu ve motor iyileşmeler gözlemlenmişlerdir (110). Rat fasiyal sinir modelinde aortik “y” tüp ile onarımda kolateral dallanma, poliinervasyon parametreleri ve fonksiyonel aşıdan tatminkar sonuçların elde edilemediği vurgulanmıştır (111). Daha yeni bir çalışmada Bendella ve ark., üç yollu aortik tüp ile onarım tekniği ile bir grupta proksimali fasiyal ana trunkus ve distalde üç dala, diğerk grupta proksimali hipoglossal sinir ve distalde yine üç fasiyal sinire koapte etmişler ve uç uca onarımla sonuçları karşılaştırmışlardır. Buna göre; üç yollu aortik tüp kullanılan gruplarda kolateral aksonal dallanmanın hafifçe azaldığı ancak bunun NMK’ta poliinervasyonda azalma ya da fonksiyonel iyileşme ile korelasyon göstermediği vurgulanmıştır (112).

Çalışmamızda daha önce denenmemiş bir onarım yöntemi olarak izojenik aort tüp modeli ve platizma kas greftinin birlikte kullanımının sonuçlarını ortaya koyduk. Poliinervasyon ve kolateral aksonal dallanma derecesi açısından aortik tüp ve kasın birlikte kullanıldığı grubun sonuçları diğer gruplara göre istatistiksel açıdan üstün bulundu. Bununla birlikte fonksiyonel sonuçlara bakıldığında onarım gruplarında elde edilen vibriseal aktivite salim gruplara göre oldukça düşük bulunmuş ancak en iyi sonuçlar yine aortik tüp ve kas greftinin birlikte kullanıldığı grupta alınmıştır.



6. ÖZET

Ratlarda Çizgili Kas Destekli Aortik Tüp Fasiyal Sinir Rejenerasyon Modelinde Fonksiyonel ve Morfolojik Sonuçların Değerlendirilmesi

Fasiyal sinir motor, otonomik ve duyu lifleri içeren oldukça işlevsel bir sinir olup, uzun anatomik seyri, komşulukları ve bazı bölgelerde yüzeyel seyretmesi bakımından yaralanmalara oldukça duyarlıdır. Konuşma, çiğneme, yutma ve mimik kaslarını inerve etmesi nedeniyle önemli işlevlere sahiptir. Hasarlanması durumunda ortaya çıkabilecek kozmetik sorunlar ruhsal sıkıntılara da yol açabilmektedir. Bu sebeplerle fonksiyonel iyileşme sağlanması adına rekonstrüksiyonu büyük önem taşımaktadır. Gelişen mikrocerrahi tekniklere rağmen sinir tamiri sonrası fonksiyonel iyileşmede halen tatminkar düzeyde değildir. Kolateral aksonal dallanma, poliinervasyon gibi aksonal rejenerasyon üzerine olumsuz etkileri en aza indirmek adına birçok yöntem araştırmalara konu olmuştur. Çalışmamızda ratlarda hasarlı fasiyal sinirin rekonstrüksiyonu için platizma kası ile doldurulmuş aortik tüp modelini kullanarak bu yöntemin rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme üzerine olan etkilerini ortaya koymayı amaçladık. Sonuç olarak; poliinervasyon ve kolateral aksonal dallanma derecesi açısından aortik tüp ve kasın birlikte kullanıldığı grubun sonuçları diğer gruplara göre istatistiksel açıdan üstün bulundu. Bununla birlikte fonksiyonel sonuçlara bakıldığında onarım gruplarında elde edilen vibriseal aktivite salım gruplara göre oldukça düşük olup, en iyi sonuçlar yine aortik tüp ve kas greftinin birlikte kullanıldığı grupta alındı.

Anahtar Kelimeler: Fasiyal Sinir Hasarı, Aortik Tüp Modeli, Platizma Kası

7. ABSTRACT

Evaluation of Functional and Morphological Results of Facial Nerve Repair By Aortic Tube and Muscle Support in A Rat Model

The facial nerve is a highly functional nerve that contains motor, autonomic, and sensory fibers, and is highly susceptible to injuries in terms of its long anatomical course, neighborhood and superficial location in some regions. It has important functions due to innervation of speech, chewing, swallowing and mimic muscles. Additionally, psychiatric problems may occur because of cosmetic effects following facial nerve injury. For these reasons, reconstruction is of great importance in terms of functional recovery. Despite the developing microsurgical techniques, functional recovery after nerve repair is still not satisfactory. Many studies have been made in order to minimize the negative effects of collateral axonal branching and polyinnervation on axonal regeneration. In our study, we aimed to reveal the functional results of facial nerve repair by using aortic tube and platysma muscle model in rats. In conclusion; there was significant difference between aortic tube-platysma muscle and the other groups in terms of polyinnervation and collateral axonal branching. However, functional results are not satisfied although the best outcome for vibriceal activity was obtained from aortic tube and platysma muscle group.

Key Words: Facial Nerve Injury, Aortic Tube Model, Platysma Muscle

8. KAYNAKLAR

- 1- Netter FH. Cranial Nerves. The Netter Collection of Medical Illustrations Vol 1. MediMedia USA 1983; 102-13
- 2- Martin MR, Lodge D. Morphology of the facial nucleus of the rat. Brain Res 1977; 123(1): 1-12. doi: 10.1016/0006-8993(77)90639-4
- 3- Greene E. Anatomy of the Rat. New York: Hafner Publishing Co; 1955. (Reprint of Transactions of the American Philosophical Society, Vol 27) [Google Scholar]
- 4- Shohara E, Sakai A. Localization of motoneurons innervating deep and superficial facial muscles in the rat: a horseradish peroxidase and electrophysiologic study, Exp Neurol 1983; 81(1): 14-33. doi: 10.1016/0014-4886(83)90154-1
- 5- Gates GA. Facial Paralysis. Otolaryngologic Clinics of North America 1987; 20(1): 113-31 [https://doi.org/10.1016/S0030-6665\(20\)31694-7](https://doi.org/10.1016/S0030-6665(20)31694-7)
- 6- Lundborg G, Rydevik B. Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit. A preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. J Bone Joint Surg Br 1973; 55(2): 390-401. PMID: 4707307
- 7- Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Ankara, Bilimsel Tıp 2. Cilt, 2002; 215-6.
- 8- Mitchell JR, Osterman AL. Physiology of nerve repair: a research update. Hand Clin 1991; 7(3): 481-90. PMID: 1939355
- 9- Seddon HJ. Three types of nerve injuries. Brain 1943; 66: 237-88. <https://doi.org/10.1093/brain/66.4.237>
- 10- Sunderland S. Nerves and Nerve Injuries, ed 2. London: Churchill Livingstone 1978.
- 11- Waller A. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced

- thereby in the structure of their primitive fibers. *Phil Trans Roy Soc* 1850; 140: 423-9.
- 12- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus* 2004; 16(5): E1. doi: 10.3171/foc.2004.16.5.2
 - 13- Diao E, Vannuyen T. Techniques for primary nerve repair. *Hand Clin* 2000; 16(1): 53-66 PMID: 10696576
 - 14- Sanes JN, Suner S, Donoghue JP. Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats. I. Long-term patterns of reorganization following motor or mixed peripheral nerve lesions. *Exp Brain Res* 1990; 79(3): 479-91 doi: 10.1007/BF00229318
 - 15- Wall JT, Kaas JH, Sur M, Nelson RJ, Felleman DJ, Merzenich MM. Functional reorganization in somatosensory cortical areas 3b and 1 of adult monkeys after median nerve repair: possible relationships to sensory recovery in humans. *J Neurosci* 1986; 6(1): 218-33. doi: 10.1523/JNEUROSCI.06-01-00218.1986
 - 16- Chang Y-S, Choi JE, Cho Y-S. Prevalence and associated factors of facial palsy and lifestyle characteristics: data from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010–2012. *BMJ Open* 2016; 6(11): e012628. doi: 10.1136/bmjopen-2016-012628
 - 17- Zhang W, Xu L, Luo T, Wu F, Zhao B, Li X. The etiology of Bell's palsy: a review. *J Neurol* 2020; 267: 1896-1905. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00415-019-09282-4>
 - 18- Heckmann JG, Heckmann SM, Lang CJ, Hummel T. Neurological aspects of taste disorders. *Arch Neurol* 2003; 60(5): 667–71. doi: 10.1001/archneur.60.5.667
 - 19- House JW, Brackmann DE. Facial nerve grading system. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985; 93(2): 146–7. doi: 10.1177/019459988509300202
 - 20- Özkale Y, Erol İ, Saygı S, Yılmaz İ. Overview of pediatric peripheral facial nerve paralysis: Analysis of 40 patients. *J Child Neurol* 2015; 30(2): 193-9. doi: 10.1177/0883073814530497

- 21- Coker NJ. Management of traumatic injuries to facial nerve. *Otolaryngology Clin North Am* 1991; 24: 215-27. PMID: 2027699
- 22- Lee KJ. *Essential Otolaryngology (Head and Neck Surgery)*. McGraw Hill Tenth Ed. 2004; 169-92.
- 23- Hohman MH, Bhama PK, Hadlock TA. Epidemiology of iatrogenic facial nerve injury: a decade of experience. *Laryngoscope* 2014; 124(1): 260-5. doi: 10.1002/lary.24117
- 24- Stew B, Williams H. Modern management of facial palsy: a review of current literature. *Br J Gen Pract* 2013; 63(607): 109–110. doi: 10.3399/bjgp13X663262
- 25- Diaz RC, Dobie RA. Test of facial nerve function. In: *Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery*. Mosby Elsevier, Fifth Ed, Chapter 169; 2381.
- 26- Fisch U. Prognostic value of electrical tests in acute facial paralysis. *Am J Otol* 1984; 5(6): 494-8. PMID: 6393772
- 27- Gantz BJ, Rubinstein JT, Gidley P, Woodworth GG. Surgical management of Bell's palsy. *Laryngoscope* 1999; 109(8): 1177-88. doi: 10.1097/00005537-199908000-00001
- 28- Sittel C, Stennert E. Prognostic value of electromyography in acute peripheral facial nerve palsy. *Otol Neurotol* 2001; 22(1): 100-4. doi: 10.1097/00129492-200101000-00019
- 29- Grosheva M, Wittekindt C, Guntinas-Lichius O. Prognostic value of electroneurography and electromyography in facial palsy. *Laryngoscope* 2008; 118(3): 394-7. doi: 10.1097/MLG.0b013e31815d8e68
- 30- Mills KR. The basics of electromyography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76(2): 32-5. doi: 10.1136/jnnp.2005.069211
- 31- Kileny PR, Disher MJ, El-Kashlan H. Facial paralysis: diagnosis and management. *Semin Hear* 1999; 20: 77-91. DOI: 10.1055/s-0028-1089913

- 32- Sahovaler A, Yeh D, Yoo J. Primary facial reanimation in head and neck cancer. *Oral Oncol* 2017; 74: 171–80. doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.08.013
- 33- Moradzadeh A, Borschel GH, Luciano JP, Whitlock EL, Hayashi A, Hunter DA, et al. The impact of motor and sensory nerve architecture on nerve regeneration. *Exp Neurol* 2008; 212(2): 370–6. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.04.012
- 34- Wilgis EFS. Techniques of epineural and group fascicular repair. In: Gelberman RH, editor. *Operative nerve repair and reconstruction*. Vol 1. Philadelphia: JB Lippincott 1991; 287–93.
- 35- Levinthal R, Brown WJ, Rand RW. Comparison of fascicular, interfascicular and epineural suture techniques in the repair of simple nerve lacerations. *J Neurosurg* 1977; 47(5): 744–50. doi: 10.3171/jns.1977.47.5.0744
- 36- Happak W, Neumayer C, Holak G, Kuzbari R. Morphometric and functional results after CO₂ laser welding of nerve coaptations. *Lasers Surg Med* 2000; 27(1): 66–72. DOI: 10.1002/1096-9101(2000)27:1<66::AID-LSM9>3.0.CO;2-Z
- 37- Gencer ZK, Ozkiris M, Saydam L, Daglioglu YK, Sakallioğlu O, Kuyucu Y, et al. The comparison of histological results of experimentally created facial nerve defects repaired by 2 different anastomosis techniques: classic suture technique or tissue adhesives for nerve anastomosis? *J Craniofac Surg* 2014; 25(2): 652–6. doi: 10.1097/SCS.0000000000000605
- 38- Bento RF, Miniti A. Comparison between fibrin tissue adhesive, epineural suture and natural union in intratemporal facial nerve of cats. *Acta Otolaryngol Suppl* 1989; 465: 1–36. doi: 10.3109/00016488909138697
- 39- Sameem M, Wood TJ, Bain JR. A systematic review on the use of fibrin glue for peripheral nerve repair. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127(6): 2381–90. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182131cf5

- 40- Spector JG, Lee P, Peterein J, Roufa D. Facial nerve regeneration through autologue nerve grafts: a clinical and experimental study. *Laryngoscope* 1991; 101(5): 537–54. doi: 10.1288/00005537-199105000-00017
- 41- Kim J. Neural reanimation advances and new technologies. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2016; 24(1): 71–84. doi: 10.1016/j.fsc.2015.09.006
- 42- Condie D, Tolkachjov SN. Facial nerve injury and repair: a practical review for cutaneous surgery. *Dermatol Surg* 2019; 45(3): 340–57. doi: 10.1097/DSS.0000000000001773
- 43- Panagopoulos GN, Megaloikonomos PD, Mavrogenis AF. The present and future for peripheral nerve regeneration. *Orthopedics* 2017; 40(1): 41–56. doi: 10.3928/01477447-20161019-01
- 44- Harris BN, Tollefson TT. Facial reanimation: evolving from static procedures to free tissue transfer in head and neck surgery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2015; 23(5): 399-406. doi: 10.1097/MOO.0000000000000193
- 45- Sotereanos DG, Seaber AV, Urbaniak JR, Spiegel DA, Sotereanos D, Anthony DC. Reversing nerve-graft polarity in a rat model: the effect on function. *J Reconstr Microsurg* 1992; 8(4): 303–7. doi: 10.1055/s-2007-1006712
- 46- Sedaghati T, Jell G, Seifalian AM. Regenerative medicine applications in organ transplantation. In: Orlando G, editor. *Nerve regeneration and bioengineering*. Elsevier 2013; 799–810.
- 47- Safa B, Weber RV, Rinker B, et al. Impact of age on outcomes in peripheral nerve repair with processed nerve allograft. ASPN 2015 Annual Meeting, Paradise Islands, Bahamas.
- 48- Mobasser A, Faroni A, Minogue BM, Downes S, Terenghi G, Reid AJ. Polymer scaffolds with preferential parallel grooves enhance nerve regeneration. *Tissue Eng Part A* 2015; 21(5-6): 1152–62. doi: 10.1089/ten.TEA.2014.0266

- 49- Çapkın S, Akhisaroğlu M, Ergür BU, Bacakoğlu AA. A biological tube technique for the repair of peripheral nerve defects using ‘stuffed nerves’. Turkish J Trau Emerg Surg 2017; 23(1): 7-14. DOI: 10.5505/tjtes.2016.89457
- 50- Barcelos AS, Rodrigues AC, Silva MDP, Padovani CR. Inside-out vein graft and inside-out artery graft in rat sciatic nerve repair. Microsurg 2003; 23(1). <https://doi.org/10.1002/micr.10083>
- 51- Mehta RP. Surgical treatment of facial paralysis. Clin Exp Otorhinolaryngol 2009; 2(1): 1–5. doi: 10.3342/ceo.2009.2.1.1
- 52- Hadlock TA, Cheney ML, McKenna MJ. Facial reanimation surgery. In: Nadol JB, McKenna MJ (Eds), Surgery of the Ear and Temporal Bone. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2005; 461–72.
- 53- May M. Anatomy for the clinician. In: May M, Schaitkin BM eds. The Facial Nerve. 2nd ed. New York: Thieme 2000; 19–561150–1156
- 54- May M, Sobol SM, Mester SJ. Hypoglossal–facial nerve interpositional jump graft for facial reanimation without tongue atrophy. Otolaryngol Head Neck Surg 1991; 104(6): 818–25. doi: 10.1177/019459989110400609
- 55- Dvali LT, Myckatyn TM. End-to-side nerve repair: review of the literature and clinical indications. Hand Clin 2008; 24(4): 455–60, vii. doi: 10.1016/j.hcl.2008.04.006
- 56- Pannucci C, Myckatyn TM, Mackinnon SE, Hayashi A. End-to-side nerve repair: review of the literature. Restor Neurol Neurosci 2007; 25(1): 45–63.
- 57- Darrouzet V, Guerin J, Bebear JP. New technique of side-to-end hypoglossal–facial nerve attachment with translocation of the infratemporal facial nerve. J Neurosurg 1999; 90(1): 27–34. doi: 10.3171/jns.1999.90.1.0027
- 58- Malik TH, Kelly G, Ahmed A, Saeed SR, Ramsden RT. A comparison of surgical techniques used in dynamic reanimation of the paralyzed face. Otol Neurotol 2005; 26(2): 284–91. doi: 10.1097/00129492-200503000-00028

- 59- Murphey AW, Clinkscales WB, Oyer SL. Masseteric nerve transfer for facial nerve paralysis: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Facial Plast Surg* 2018; 20(2): 104-110. doi: 10.1001/jamafacial.2017.1780
- 60- Thaller S, McDonald W. *Facial Trauma* (Electronic resource). New York; Basel: Dekker M 2004.
- 61- Hundeshagen G. Effect of Mechanical Stimulation of the Vibriseal Muscles on the Recovery of Whisking After Hypoglossal–Facial Nerve Anastomosis (HFA) in Adult Rats. Department of Anatomy, University of Cologne, Cologne 2006.
- 62- Terzis JK, Konofaos P. Nerve transfers in facial palsy. *Facial Plast Surg* 2008; 24(2): 177–93. doi: 10.1055/s-2008-1075833
- 63- Ferreira MC, Besteiro JM, Tuma Jr P. Results of reconstruction of the facial nerve. *Microsurgery* 1994; 15(1): 5–8. doi: 10.1002/micr.1920150104
- 64- Zochodne DW. *Neurobiology of Peripheral Nerve Regeneration*. Cambridge University Press, London 2008.
- 65- Purves D, Cabeza R, Huettel SA, LaBar KS, Platt ML, Woldorff MG. *Principles of Cognitive Neuroscience*. Sinauer Associates 2008. <https://psycnet.apa.org/record/2007-17943-000>
- 66- Gaudet AD, Popovich PG, Ramer MS. Wallerian degeneration: gaining perspective on inflammatory events after peripheral nerve injury. *J Neuroinflammation* 2011; 8: 110. doi: 10.1186/1742-2094-8-110
- 67- Jessen KR, Mirsky R, Lloyd AC. Schwann cells: development and role in nerve repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2/15; 7(7): a020487. doi: 10.1101/cshperspect.a020487
- 68- Brushart TM, Seiler WA 4th. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. *Exp Neurol* 1987; 97(2): 289–300. doi: 10.1016/0014-4886(87)90090-2
- 69- Nguyen QT, Sanes JR, Lichtman JW. Pre-existing pathways promote precise projection patterns. *Nat Neurosci* 2002; 5(9): 861–7. doi: 10.1038/nn905

- 70- Guntinas-Lichius O, Irintchev A, Streppel M, Lenzen M, Grosheva M, Wewetzer K, Neiss WF, Angelov DN. Factors limiting motor recovery after facial nerve transection in the rat: combined structural and functional analyses. *Eur J Neurosci* 2005; 21(2): 391–402. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.03877.x
- 71- Anonsen CK, Trachy RE, Hibbert J, Cummings CW. Assessment of facial reinnervation by use of chronic electromyographic monitoring. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1986; 94(1): 32–6. doi: 10.1177/019459988609400105
- 72- Bunnell S. Surgical repair of the facial nerve. *Arch Otolaryngol* 1937; 25: 235–59.
- 73- Millesi H. Nerve suture and grafting to restore the extratemporal facial nerve. *Clin Plast Surg* 1979; 6(3): 333–41. PMID: 385212
- 74- Millesi H. Nerve grafting. *Clin Plast Surg* 1984; 11(1): 105–13. PMID: 6368092
- 75- Lundborg G. Alternatives to autologous nerve grafts. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 2004; 36(1): 1–7. doi: 10.1055/s-2004-820870
- 76- Nakatsuka H, Takamatsu K, Koshimune M, Imai Y, Enomoto M, Yamano Y. Experimental study of polarity in reversing cable nerve grafts. *J Reconstr Microsurg* 2002; 18(6): 509–15. doi: 10.1055/s-2002-33323
- 77- Nichols CM, Brenner MJ, Fox IK, Tung TH, Hunter DA, Rickman SR, et al. Effects of motor versus sensory nerve grafts on peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol* 2004; 190(2): 347–55. doi: 10.1016/j.expneurol.2004.08.003
- 78- Matsuyama T, Mackay M, Midha R. Peripheral nerve repair and grafting techniques: a review. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2000; 40(4): 187–99. doi: 10.2176/nmc.40.187
- 79- Dvali L, Mackinnon S. Nerve repair, grafting, and nerve transfers. *Clin Plast Surg* 2003; 30(2): 203–21. doi: 10.1016/s0094-1298(02)00096-2

- 80- Wilgis EFS. Techniques of epineural and group fascicular repair. In: Gelberman RH, editor. Operative nerve repair and reconstruction. Vol 1. Philadelphia: JB Lippincott 1991; 287–93.
- 81- Knox CJ, Hohman MH, Kleiss IJ, Weinberg JS, Heaton JT, Hadlock TA. Facial nerve repair: fibrin adhesive coaptation versus epineurial suture repair in a rodent model. *Laryngoscope* 2013; 123(7): 1618–21. doi: 10.1002/lary.23885
- 82- Choi BH, Kim BY, Huh JY, Lee SH, Zhu SJ, Cho BP. Microneural anastomosis using cyanoacrylate adhesives. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33(8): 777–80. doi: 10.1016/j.ijom.2004.03.006
- 83- Starritt NE, Kettle SA, Glasby MA. Sutureless repair of the facial nerve using biodegradable glass fabric. *Laryngoscope* 2011; 121(8): 1614–9. doi: 10.1002/lary.21868
- 84- Siemionow M, Brzezicki G. Chapter 8: Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. *Int Rev Neurobiol* 2009; 87: 141–72. doi: 10.1016/S0074-7742(09)87008-6
- 85- Hayworth CR, Moody SE, Ghodosh LA, Krieg P, Rimer M, Zhompson WJ. Induction of neuregulin signaling in Mouse Schwann cells in vivo mimics responses to denervation. *J Neurosci* 2006; 26: 6873–84.
- 86- Van Veen MM, Dijkstra PU, Werker PMN. A higher quality of life cross-face nerve grafting as an adjunct to a hypoglossal-facial nerve jump graft in facial palsy treatment. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2017; 70(11): 1666–74. doi: 10.1016/j.bjps.2017.06.002
- 87- Yamamoto Y, Sekido M, Furukawa H, Oyama A, Tsutsumida A, Sasaki S. Surgical rehabilitation of reversible facial palsy: facial-hypoglossal network system based on neural signal augmentation/neural supercharge concept. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007; 60(3): 223–31. doi: 10.1016/j.bjps.2006.05.012
- 88- Ueda K, Akiyoshi K, Suzuki Y, Ohkouchi M, Hirose T, Asai E, Tateshita T. Combination of hypoglossal–facial nerve jump graft by end-to-side

- neurorrhaphy and cross-face nerve graft for the treatment of facial paralysis. *J Reconstr Microsurg* 2007; 23(4): 181–7. DOI: 10.1055/s-2007-974654
- 89- Shimizu M, Matsumine H, Osaki H, Ueta Y, Tsunoda S, Kamei W, Hashimoto K, et al. Adipose-derived stem cells and the stromal vascular fraction in polyglycolic acid-collagen nerve conduits promote rat facial nerve regeneration. *Wound Repair Regen* 2018; 26(6): 446-55. doi: 10.1111/wrr.12665
 - 90- Matsumine H, Sasaki R, Yamato M, Okano T, Sakurai H. A polylactic acid non-woven nerve conduit for facial nerve regeneration in rats. *J Surg Eng Regen Med* 2014; 8(6): 454-62. doi: 10.1002/term.1540
 - 91- Kitahara AK, Suzuki Y, Qi P, Nishimura Y, Suzuki K, Kiyotani T, et al. Facial nerve repair using a collagen conduit in cats. *Scand J Reconstr Surg Hand Surg* 1999; 33(2): 187-93. doi: 10.1080/02844319950159442
 - 92- Niimi Y, Matsumine H, Takeuchi Y, Hironobu O, Tsunoda S, Miyata M, et al. A collagen-coated PGA conduit for interpositional-jump graft with end-to-side neurorrhaphy for treating facial nerve paralysis in rat. *Microsurgery* 2018; 39(1). <https://doi.org/10.1002/micr.30291>
 - 93- Mobasser A, Faroni A, Minogue BM, Downes S, Terenghi G, Reid AJ. Polymer scaffolds with preferential parallel grooves enhance nerve regeneration. *Tissue Eng* 2015; 21: 1152–62. doi: 10.1089/ten.tea.2014.0266
 - 94- Spearman BS, Desai VH, Mobini S, McDermott MD, Graham JB, Otto KJ, et al. Tissue-engineered peripheral nerve interfaces. *Adv Funct Mater* 2018; 28(12): 1701713. <https://doi.org/10.1002/adfm.201701713>
 - 95- Li R, Li DH, Zhang HY, Wang J, Li XK, Xiao J. Growth factors-based therapeutic strategies and their underlying signaling mechanisms for peripheral nerve regeneration. *Acta Pharmacol Sin* 2020; 41(10): 1289-300. doi: 10.1038/s41401-019-0338-1
 - 96- Ma F, Zhu T, Xu F, Wang Z, Zheng Y, Tang O, et al. Neural stem/progenitor cells on collagen with anchored basic fibroblast growth factor as potential

- natural nerve conduits for facial nerve regeneration. *Acta Biomaterialia* 2017; 50: 188-97. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.064>
- 97- Jang CH, Lee H, Kim MS, Kim GH. Effect of polycaprolactone/ collagen/ hUCS microfiber nerve conduit on facial nerve regeneration. *Int J Biol Macromol* 2016; 93(Pt B): 1575-82. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.031
 - 98- Wang TV, Delaney S, Pepper JP. Current state of stem cell-mediated therapies for facial nerve injury. *Curr Opinion Otolaryngol Head Neck Surg* 2016; 24(4): 285-93. DOI: 10.1097/moo.0000000000000292
 - 99- Esaki S, Katsumi S, Hamajima Y, Nakamura Y, Murakami S. Transplantation of Olfactory Stem Cells with Biodegradable Hydrogel Accelerates Facial Nerve Regeneration After Crush Injury. *Stem Cells Transl Med* 2019; 8(2): 169-78. doi: 10.1002/sctm.15-0399
 - 100- di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J Plast Recontstr Aesthet Surg* 2010; 63(9): 1544-52. doi: 10.1016/j.bjps.2009.09.012
 - 101- Du ZW, Chen H, Liu H, Lu J, Qian K, Huang CTL, et al. Generation and expansion of highly pure motor neuron progenitors from human pluripotent stem cells. *Nat Commun* 2015; 6: 6626. doi: 10.1038/ncomms7626
 - 102- Bryson JB, Machado CB, Crossley M, Stevenson D, Bros-Facer V, Burrone J, Greensmith L, et al. Optical control of muscle function by transplantation of stem cell-derived motor neurons in mice. *Science* 2014; 344(6179): 94-7. doi: 10.1126/science.1248523
 - 103- Toma JS, Shettar BC, Chipman PH, Pinto DM, Borowska JP, Ichida JK, et al. Motoneurons Derived from Induced Pluripotent Stem Cells Develop Mature Phenotypes Typical of Endogenous Spinal Motoneurons. *J Neurosci* 2015; 35(3): 1291-306. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2126-14.2015>
 - 104- Çapkın S, Akhisaroğlu M, Ergür BU, Bacakoğlu AA. A biological tube technique for the repair of peripheral nerve defects using ‘stuffed nerves’.

- Turkish J Trau Emerg Surg 2017; 23(1): 7-14.
DOI: 10.5505/tjtes.2016.89457
- 105- Keskin M, Akbaş H, Uysal OA, Canan S, Ayyıldız M, Açar E, et al. Enhancement of nerve regeneration and orientation across a gap with a nerve graft within a vein conduit graft: a functional, stereological, and electrophysiological study. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113(5): 1372–9. doi: 10.1097/01.prs.0000111596.61137.a1
 - 106- Manthou ME, Gencheva D, Sinis N, Rink S, Papamitsou T, Abdulla D, Bendella H, Sarikcioglu L, Angelov DN. Facial Nerve Repair by Muscle-Vein Conduit in Rats: Functional Recovery and Muscle Reinnervation. Published Online:4 Nov 2020 <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2020.0045>
 - 107- Tang J, Wang X-M, Hu J, Luo E, Qi M-C. Autogenous standard versus inside-out vein graft to repair facial nerve in rabbits. *Chun J Traumatol* 2008; 11(2): 104-9. doi: 10.1016/s1008-1275(08)60022-x
 - 108- Jiming K, Shizhen Z, Bo S, Shengxiu Z. Experimental study of bridging the peripheral nerve gap with skeletal muscle. *Microsurgery* (First published) 1986; 7(4). <https://doi.org/10.1002/micr.1920070411>
 - 109- Kerns JM, Danielsen N, Zhao Q, Lundborg G, Kanje M. A comparison of peripheral nerve regeneration in acellular muscle and nerve autografts. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2003; 37(4): 193-200. doi: 10.1080/02844310310016368
 - 110- Battiston B, Tos P, Cushway TR, Geuna S. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts I. Clinical Results. *Microsurgery* 2000; 20(1): 32-6. doi: 10.1002/(sici)1098-2752(2000)20:1<32::aid-micr6>3.0.co;2-d.
 - 111- Hizay A, Ozsoy U, Demirel BM, Ozsoy O, Angelova SK, Ankerne J, et al. Use of a Y-tube conduit after facial nerve injury reduces collateral axonal branching at the lesion site but neither reduces polyinnervation of motor endplates nor improves functional recovery. *Neurosurgery* 2012; 70: 1544-56.

- 112- Bendella H, Rink S, Manthou M, Papamitsou T, Nakamura M, Angelov DN, Sarikcioglu L. Effect of surgically guided axonal regrowth into a 3-way-conduit (isogeneic trifurcated aorta) on functional recovery after facial-nerve reconstruction: Experimental study in rats. *Restor Neurol Neurosci* 2019; 37(2): 181-96. doi: 10.3233/RNN-190899



9. EKLER

Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Merkezi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
2018
KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu		
	AÇIK ADRESİ:	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA		
	TELEFON	0 (242) 249 69 54		
	FAKS	0 (242) 249 69 03		
	E-POSTA	akhadye@akdeniz.edu.tr		
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Ethem GÖKSU			
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çizgili kas destekli aortik tüp fasiyal sinir rejenerasyon modelinde fonksiyonel ve morfolojik sonuçların değerlendirilmesi			
BASVURU FORMU ID/ PROTOKOL NO	798/2018.10.33			
Çalışma süresi	Denek türü	Denek Sayısı	Denek Cinsiyeti	
12 ay	Sıçan/Wistar Rat	65 adet	Dişi	
Araştırma Sonunda Deneklere Uygulanacak İşlemler	Deney protokolünün uygulanmasından sonra ötenazi yapılacaktır			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 47	Tarih: 10.10.2018		
	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesi görüşüldü ve ilgili projenin etik açıdan bir sakınca içermediği tespit edildiğinden, projenin yapılmasının UYGUN olduğuna karar verildi.			
	Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.			

Prof.Dr. Vecihe Nimet UYSAL
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr. Erkan ÇOBAN
Üye (İzinli)

Prof.Dr. Gökhan AKKOYUNLU
Üye

Prof.Dr. Yılmaz EMRE
Üye

Doç.Dr.Ethem Taner GÖKSU
Üye (Proje Yürütücüsü)

Doç.Dr.Mükerrem HATİPOĞLU
Üye (İzinli)

Doç.Dr.Mehmet BÜLBÜL
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Aşkın GALIÇ
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Selin BERT SUTÇU
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Ceren KENCEBAY MANAS
Üye

Vet. Hekim Sefer KÜÇÜKER
Üye (İzinli)

Öğr. Gör. Doç. BESNE
Üye

Aytaç AKMAN
Üye